



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554405_0080

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. med. P. Klein

DIE BEEINFLUSSUNG DER CHEMORESISTENZ,
DER GENERATIONSZEIT UND DER MUTATIONSRATE
VERSCHIEDENER KEIMARTEN
DURCH SALZE VON 8-CHLOR-THEOPHYLLIN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz

vorgelegt von

THOMAS NEUBERT

aus Magdeburg



MAINZ
1963

Dekan:	Professor Dr.med. H. Bredt
Referent:	Professor Dr.med. Dr.rer.nat. G. Gillissen
Korreferent:	Professor Dr.med. P. Klein
Tag der mündl. Prüfung:	11.2.1963

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Einleitung und Ziel der Arbeit	1
2. Literarischer Überblick über die Beeinflussung der Keimresistenz durch 8-Chlor-theophyllin	1

EIGENE VERSUCHE

3. Material und Methoden	3
4. Ergebnisse	11
a) Veränderung des Resistenzbildes	11
b) Veränderung der Generationszeit	15
c) Veränderung der Mutationsrate	16
5. Diskussion	17
6. Zusammenfassung	18
7. Literatur	19

EINLEITUNG UND ZIEL DER ARBEIT

Frühere Untersuchungen hatten ergeben, daß 8-Chlor-theophyllin (8-Ch) in Verbindung mit Penicillin die Chemosensibilität von Staphylokokken-Stämmen erhöht (Gillissen u. Storbeck). Dasselbe war der Fall bei Verwendung von 8-Ch und Streptomycin gegenüber verschiedenen Stämmen von Tuberkel-Bakterien. Es war deswegen von Interesse, ob verschiedene Verbindungen von 8-Ch einen unterschiedlichen Einfluß auf die Chemosensibilität von Mikroorganismen besitzen. Deswegen wurden verschiedene solcher Verbindungen gegen Stämme von *M. pyogenes* var. *aureus* mit unterschiedlicher Penicillin (Pc)-Resistenz ausgetestet. Dabei sollte als Antibiotikum vornehmlich Pc benutzt werden.

Darüber hinaus wurde aber auch je ein Stamm von *E. coli* und *S. typhi* in ihrer Beeinflußbarkeit durch verschiedene 8-Ch-Verbindungen untersucht. Dabei diente die Ansprechbarkeit der Stämme auf Streptomycin bzw. Chloromycetin als Kriterium.

Generell wurde überdies noch die Beeinflussung der Generationszeit und in speziellen Fällen auch die der Mutationsrate geprüft.

LITERARISCHER ÜBERBLICK ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER KEIMRESISTENZ DURCH 8-CHLOR-THEOPHYLLIN

Im Verlauf anderweitiger Untersuchungen war die Beobachtung gemacht worden, daß in Mischungen von 8-Ch und Pc bei längerer Aufbewahrungszeit schwer lösliche Kristallnadeln ausfallen, die eine antibakterielle Aktivität besitzen (Gillissen u. Storbeck). Dasselbe war auch der Fall bei Verwendung des Natrium-Salzes von 8-Ch. Es konnte gezeigt werden, daß der Hauptanteil der Kristalle aus 8-Ch besteht, daß sich darin aber auch noch antibiotisch aktives Pc befindet. Es handelt sich dabei nicht um eine Mischung bzw. um in die Kristalle eingelagertes Pc, sondern um ein komplexartiges Reaktionsprodukt unter Beibehaltung der antibiotischen Aktivität. Arbeitet man mit äquimolekularen Konzentrationen, dann gewinnt man ein farbloses lockeres Pulver, das gut wasserlöslich ist. Die Untersuchung des UV- und des Infrarotspektrums der Lösung ergab im Vergleich zu Lösungen von 8-Ch-Na und Pc-G-Na, d.h. im Vergleich zu den Ausgangssubstanzen, daß der neugebildete Stoff mit diesen nicht zu identifizieren ist. Dieses Penicillin-8-Chlor-theo-

phyllin war insofern von Interesse, als die mittlere Pc-Sensibilität verschiedener resistenter Stämme von *M. pyogenes* var. *aureus* erhöht wird (Gillissen u. Storbeck). Möglicherweise kann diese Erhöhung auf eine Verbesserung der Diffusion in die Zelle zurückgeführt werden. Allerdings ist die Erleichterung einer Diffusion nicht an Bakterienzellen nachgewiesen worden, sondern nur durch eine konzentrationsabhängige Erhöhung des Diffusionskoeffizienten im Auxanogrammverfahren.

Die biologischen Eigenschaften dieses Anionen-Komplexes - Penicillinat - 8-Chlor-theophyllinat - lassen sich, soweit untersucht, wie folgt umreißen:

Pc-8-Ch zeichnet sich in wässriger Lösung gegenüber Pc-G-Na durch eine ausgesprochene Thermostabilität aus. Diese ist praktisch identisch mit der Thermostabilität einer Pc-Procaïn-Verbindung, die man gerne als Depot-Präparate benutzt. Dabei ist es gleichgültig, ob man für diese Versuche Pc-8-Ch unter Verwendung von 8-Ch-Na, 8-Ch-K oder Triäthylammonium-8-Ch hergestellt hat. Im Gegensatz zu den Procaïn-Salzen des Pc gibt Pc-8-Ch aber keinen Depot-Effekt. Die antibakterielle Aktivität von Pc-8-Ch wird ebenso wie die von Pc-G-Na durch Penicillinase herabgesetzt (Gillissen, Carlson u. Storbeck).

Von besonderem Interesse war die Frage, ob verschiedene Arten und Stämme von Mikroorganismen in ihrer Chemosensibilität gegen verschiedene antimikrobielle Wirkstoffe durch 8-Ch in gleicher Weise beeinflußt werden. Zur Abklärung dieser Versuchsergebnisse wurde auch der Einfluß auf die Generationszeit und auf die Mutationsrate einiger Testorganismen untersucht, denn es ist verständlich, daß mit einem Abfall der Mutationsrate auch die Schnelligkeit eines Resistenzanstiegs reduziert wird. Eine solche Abhängigkeit zwischen Mutationsrate und Schnelligkeit eines Resistenzanstiegs wurde mit verschiedenen Purinkörpern schon früher demonstriert (Novick u. Scillard). Auch die Generationszeit spielt dabei eine große Rolle, da sich beispielsweise bei Staphylokokken die Zellen des sensiblen Anteils einer Population schneller vermehren als die chemoresistenten Zellen, so daß es im Verlauf von mehreren Passagen zwangsläufig zu einer Erhöhung der mittleren Sensibilität eines ursprünglich resistenten Stammes kommt (Welsch, Mayr-Harting, Linz und Lecocq).

Diese Versuche ergaben, daß 8-Ch die Sensibilität mancher Mikroorganismen gegen antimikrobielle Wirkstoffe erhöht. Unterschiedlich ist jedoch der Grad der Erhöhung je nach Keimart und je nach Art der Wirkstoffe.

Die Vermehrungsgeschwindigkeit und die Mutationsrate von Staphylokokken

wird durch 8-Ch vermindert. Es besteht demnach das Phänomen, daß die Keime eine längere Generationszeit (= langsamere Vermehrungsgeschwindigkeit) mit einer Erhöhung der Sensibilität verbinden.

MATERIAL UND METHODEN

Verwandt wurden folgende Stämme von Mikroorganismen:

- 1.) *M. pyogenes* var. *aureus* Sg 511,
ein Pc-sensibler Stamm (Pc-Sensibilität bei 0,04 E/ml Pc)
- 2.) *M. pyogenes* var. *aureus* 431,
ein Pc-resistenter und Penicillinase bildender Stamm.
(Es handelt sich dabei um einen Stamm aus pathologischem Material, da bekanntlich alle Pc-resistenten Stämme, die von Patienten isoliert werden, Penicillinasebildner sind; darüber hinaus wurde aber dennoch die Penicillinase-Bildung kontrolliert.)
- 3.) *M. pyogenes* var. *aureus* 40,
ein Pc-resistenter, aber keine Penicillinase bildender Stamm. (Dieser Stamm wurde durch Passagen in steigender Pc-Konzentration gezüchtet.)
- 4.) Ein Stamm von *E. coli*
- 5.) Ein Stamm von *S. typhi*

Die Stämme wurden über die Versuchszeit auf Schrägagar gehalten und im Kühlschrank aufbewahrt.

Als Kulturmedium diente für alle Wachstumsversuche ein Nähragar.

Für die Stämme 1, 2, 3 und 5 wurde als Antibiotikum Pc benutzt (Ampullen mit 200 000 IE Pc-G-Na).

Unter sterilen Bedingungen wurden die 200 000 E Pc in 10 ml Aqua bidest. gelöst. Die auf diese Weise gewonnene Lösung mit 20 000 E Pc/ml wurde wie folgt weiterverdünnt:

1 ml 20 000 E/ml + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 2 000 E/ml

1 ml 2 000 E/ml + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 200 E/ml

1 ml 200 E/ml + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 20 E/ml

1 ml 20 E/ml + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 2 E/ml

Für die Stämme 4 und 5 wurde als Antibiotikum Chloromycetin (Parke-Davis,

Filiale München) benutzt. (Ampullen mit Chloramphenicol-Monosuccinat-Na, entsprechend 1 g Chloromycetin pro Ampulle).

1 g wurde steril in 10 ml Aqua bidest. gelöst (= 100 mg/ml).

1 ml 100 mg/ml + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 10 mg/ml Chloromycetin

1 ml 10 mg/ml + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 1 mg/ml Chloromycetin

Für den Stamm 4 wurde außerdem noch Streptomycin (Bayer, Leverkusen) benutzt. (Ampulleninhalt: Dihydro-Streptomycin-Sulfat krist., entsprechend 1 g reiner Base.)

Der Ampulleninhalt wurde jeweils in 10 ml Aqua bidest. gelöst (= 100 mg/ml).

1 ml 100 mg/ml Str. + 9 ml Aqua bidest. = 10 ml 10 mg/ml Streptomycin

Die Ausgangslösungen aller drei Antibiotika wurden bei Nichtgebrauch eingefroren aufbewahrt.

Zur Untersuchung einer Beeinflussung der Chemosensibilität, der Generationszeit und der Mutationsrate der genannten fünf Keimarten wurden 5 Salze von 8-Chlor-theophyllin benutzt.

1.) Na-8-Chlor-theophyllin (TCI_1)

Die chemischen Daten sind: Mol.-Gewicht: 236,62

2.) Triäthylammonium-8-Chlor-theophyllin (TCI_2)

Die chemischen Daten sind: Mol.-Gewicht: 296,86

3.) N-Methylglukamin-8-Chlor-theophyllin (TCI_4)

Die chemischen Daten sind: Mol.-Gewicht: 409,84

Wasserlöslichkeit: 20 mg/ml

4.) 8-Brom-theophyllin (TCI_9)

Die chemischen Daten sind: Mol.-Gewicht: 454,30

Wasserlöslichkeit: 40 mg/ml

5.) 8-Jod-theophyllin (TCI_{13})

Die chemischen Daten sind: Mol.-Gewicht: 501,29

Wasserlöslichkeit: 40 mg/ml

METHODEN

1) Dilutionstest zur Feststellung einer antibakteriellen Wirkung der Testsubstanzen selbst

Mit den einzelnen Stämmen wurden einfache Verdünnungsreihen gegen die verschiedenen Testsubstanzen allein durchgeführt, um die Konzentrationen der Testsubstanzen zu ermitteln, in deren Gegenwart ein Keimwachstum gerade noch möglich ist.

Versuchsanordnung:

Eine keimhaltige Bouillon wird hergestellt, indem man z.B. zu 50 ml Fleischwasser-Bouillon 0,5 ml einer 20 Stunden bebrüteten Keimbouillon gibt. Nach guter Durchmischung pipettiert man diese Bouillon in 5 Reihen zu je 8 Röhrchen, und zwar je Röhrchen 1 ml.

Für die erste Reihe nimmt man von der ersten Testsubstanz 1 ml und pipettiert diesen in das erste Röhrchen. In dem Röhrchen befindet sich nun pro ml nur noch die Hälfte der dazugegebenen Testsubstanzkonzentration. X mg/ml sei die Konzentration der Testsubstanz am Anfang, dann befindet sich im ersten Röhrchen nur noch eine Konzentration von $X/2$ mg/ml. Pipettiert man von diesem Röhrchen nach guter Vermischung 1 ml in das nächste, so beinhaltet das zweite Röhrchen nur noch eine Konzentration der Testsubstanz von $X/4$ mg/ml. Die Konzentration der Testsubstanz verdünnt sich bei gleichartigem Weiterpipettieren in Form einer geometrischen Reihe:

$x \dots x/2 \dots x/4 \dots x/8 \dots x/16 \dots$ usw. In der zweiten Reihe Röhrchen wird die gleiche geometrische Verdünnungsreihe mit einer anderen Testsubstanz durchgeführt, so auch in der 3., 4. und 5. Reihe.

Die fertiggestellten Reihen werden 20 Stunden im Brutraum bei 37°C bebrütet. Nach 20 Stunden wird das Ergebnis am Grade der Trübung der in den Röhrchen befindlichen Bouillon abgelesen.

Die Bewertung der Ergebnisse:

- + = ein sehr geringer Bodensatz im Röhrchen, der beim Aufschütteln keine Trübung des Röhrcheninhalts ergibt.
- + = ein Bodensatz, der beim Aufschütteln wolkig im Röhrchen zu sehen ist.
- ++ = ein Bodensatz, der beim Aufschütteln eine Trübung der Bouillon hervorruft.
- +++ = eine makroskopisch sichtbare Trübung der Bouillon.

2.) Dilutionstests mit Wirkstoffkombinationen

In diesen Versuchen wurde die Keimsensibilität gegen verschiedene Antibiotika in geometrischen Verdünnungsstufen ausgetestet, jedoch in Gegenwart von TCl-Konzentrationen, die sich in den Vorversuchen als sicher subbakteriostatisch erwiesen hatten. Stets wurde eine Kontrolltestung in Abwesenheit von TCl durchgeführt.

Versuchsanordnung :

In einer Reihe von 15 Röhrchen führt man eine einfache Verdünnungsreihe mit dem benötigten Antibiotikum durch. Man gibt in jedes Gläschen 2 ml Aqua bidest., nimmt ein Antibiotikum von der Konzentration x E/ml und pipettiert davon in das erste Röhrchen 2 ml, hat also in diesem Röhrchen 2 ml Aqua bidest. und 2 ml Antibiotikum, das ist pro ml eine Konzentration von $x/2$ E/ml Antibiotikum. Davon nimmt man nach guter Durchmischung 2 ml und gibt diese ins zweite Röhrchen, durchmischt den Inhalt, der nun eine Antibiotikum-Konzentration von $x/4$ E/ml hat. Bei gleichartigem Weiterpipettieren erhält man also wieder eine geometrische Verdünnungsreihe, diesmal von dem Antibiotikum allein.

Man füllt von einer Testsubstanz einer Konzentration von x mg/ml in ein erstes Reagensglas 10 ml, in ein zweites 5 ml und in ein drittes 2,5 ml. In das zweite wird dazu 5 ml Aqua bidest. gegeben, in das dritte 7,5 ml Aqua bidest. Man hat auf diese Weise dreimal 10 ml Testsubstanz im Konzentrationsverhältnis von x , $x/2$ und $x/4$ mg/ml.

Als drittes stellt man eine Keimbouillon her, indem man zu 50 ml Bouillon 0,5 ml einer 20 Stunden bebrüteten Keimbouillon gibt.

Man stellt 3 Reihen à 15 Reagenzgläser auf und gibt in jedes dieser Gläschen je 1 ml der hergestellten Keimbouillon. In die erste Reihe von 15 Gläschen gibt man je Glas dazu $1/2$ ml Testsubstanz einer Konzentration von x mg/ml. In die zweite Reihe von 15 Gläschen wird je Glas $1/2$ ml Testsubstanz einer Konzentration von $x/2$ mg/ml, in die dritte Reihe je $1/2$ ml Testsubstanz einer Konzentration von $x/4$ mg/ml gegeben.

Zum Schluß stellt man die Antibiotikum-Verdünnungsreihe von 15 Gläschen über den drei Reihen Reagenzgläsern auf und gibt nun

vom 1. Gläschen der Verdünnungsreihe

je $1/2$ ml Antibiotikum einer Konzentration von $x/2$ E/ml in die ersten Gläschen der darunterstehenden drei Reihen,

vom 2. Gläschen der Verdünnungsreihe
je $\frac{1}{2}$ ml Antibiotikum einer Konzentration von $\frac{x}{4}$ E/ml in die
zweiten Gläschen der darunterstehenden drei Reihen, u. s. f.

Im ersten Glas der ersten Reihe ist nun enthalten:

Keimbouillon
 $\frac{x}{8}$ E/ml Antibiotikum
 $\frac{x}{4}$ mg/ml Testsubstanz.

Im ersten Glas der zweiten Reihe ist enthalten:

Keimbouillon
 $\frac{x}{8}$ E/ml Antibiotikum
 $\frac{x}{8}$ mg/ml Testsubstanz.

Im ersten Glas der dritten Reihe ist enthalten:

Keimbouillon
 $\frac{x}{8}$ E/ml Antibiotikum
 $\frac{x}{16}$ mg/ml Testsubstanz.

In allen drei Reihen verringert sich das Antibiotikum in Form einer geometrischen Reihe. Die Testsubstanz bleibt je Reihe gleich. Als höchste Konzentration der Testsubstanz wählt man nach Möglichkeit diejenige, die das Wachstum der bestimmten Keime in der isolierten Verdünnungsreihe gegen die Testsubstanz allein gerade nicht mehr hemmt.

Die fertigen Verdünnungsreihen werden im Brutraum bei 37°C bebrütet und nach 20 und 48 Stunden makroskopisch nach dem Grad ihrer Trübung abgelesen.

Die Bewertung der Ergebnisse:
Wie bei den einfachen Verdünnungsreihen.

3.) Bestimmung der Generationszeit

Unter Generationszeit versteht man die Teilungsgeschwindigkeit in Minuten. Die Messung bzw. Berechnung darf nur während der logarithmischen Wachstumsphase erfolgen. In diesem Wachstumsabschnitt wird also gemessen, in wieviel Minuten sich die Zellzahl einer Population verdoppelt. Es wurden immer gleichzeitig drei Ansätze hergestellt, von denen der erste x mg/ml Testsubstanz, der zweite $\frac{x}{4}$ mg/ml Testsubstanz enthält. Dem dritten Ansatz wird statt Testsubstanz das gleiche Volumen Aqua bidest. zugesetzt.

Versuchsanordnung:

Etwa 5 ml einer 20 Stunden bebrüteten Keimbouillon werden einmal steril gewaschen, und die durch Zentrifugieren gewonnenen Keime werden mit frischer Bouillon wieder aufgenommen. 1 ml dieser Keimsuspension wird dann mit einer Zählflüssigkeit, bestehend aus 200 ml physiologischer NaCl-Lösung, 2 ml Formalin und 2 ml Methylenblau 1 : 50 verdünnt und dreimal in einer Thoma-Zählkammer ausgezählt. da erfahrungsgemäß bei dreimaliger Auszählung die Fehlerbreite in geringen Grenzen gehalten wird. Aus dem arithmetischen Mittel der drei Zählungen wird unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors die Zellkonzentration der Keimsuspension errechnet und durch Verdünnen mit Bouillon auf 2×10^6 Keime/ml eingestellt.

Von den Testsubstanzen wird eine 1 : 5 mit Bouillon verdünnte wässrige Lösung hergestellt, und diese zu gleichen Teilen mit der 2×10^6 -Keimbouillon gemischt.

Beispiel:	5 ml x mg/ml TCl + 20 ml Bouillon
	= 25 ml TCl-Bouillon
	+ 25 ml 2×10^6 -Bouillon
	50 ml 1×10^6 -Bouillon
	(x/10 mg/ml TCl enthaltend).

Im zweiten Ansatz wird das gleiche Volumen der Testsubstanz aber mit nur $1/4$ der Konzentration benutzt, ebenfalls 1 : 5 mit Bouillon verdünnt und diese Testsubstanz-Bouillon dann zu gleichen Teilen mit der 2×10^6 -Keimbouillon vermischt. In der Kontrolle, dem dritten Ansatz, wird anstelle der Testsubstanz das gleiche Volumen Aqua bidest. 1 : 5 mit Bouillon vermischt.

Auf diese Weise erhält man drei Ansätze, die je 50 ml einer Keimbouillon mit 1×10^6 Keimen/ml enthalten. Unterschiedlich ist nur die Konzentration der Testsubstanz bei gleichem Volumen.

Diese drei Ansätze werden in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Unmittelbar davor, sowie nach 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 7 Stunden wird jedem Ansatz eine Probe von 1 ml entnommen, die nach adäquater Vorverdünnung auf Agarplatten gegeben wird. Diese Vorverdünnung wird mit Aqua bidest. hergestellt. Als Verdünnungsstufen wurden gewählt:

nach 0 Stunden	$0,33 \times 10^{-3}$	(1 : 3 000)
nach 1 Stunde	$0,33 \times 10^{-3}$	(1 : 3 000)
nach 2 Stunden	1×10^{-4}	(1 : 10 000)
nach 3 Stunden	1×10^{-5}	(1 : 100 000)

nach 4 Stunden	$0,2 \times 10^{-5}$	(1 : 500 000)
nach 5 Stunden	1×10^{-6}	(1 : 1 000 000)
nach 6 Stunden	$0,2 \times 10^{-5}$	(1 : 500 000)
nach 7 Stunden	$0,2 \times 10^{-5}$	(1 : 500 000)

Die Verdünnungsgrade wurden nicht mehr als notwendig gewechselt, um einen Verdünnungsfehler möglichst zu umgehen.

Im einzelnen wurden auf 7 Agar-Platten jeweils 0,3 ml einer adäquaten Vorverdünnung gegeben, und diese mit einer Öse gleichmäßig verteilt. Die Erfahrung besagt, daß die Fehlerquelle bei 7 solchen Ausstrichen sehr gering gehalten werden kann.

Die auf diese Weise bestrichenen Agarplatten werden nach 24 stündiger Bebrütung bei 37°C nach den makroskopisch sichtbaren Kolonien ausgezählt. Die auf 7 Platten gezählten Kolonien ergeben unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors und des aufgegebenen Testvolumens die sogenannte Lebendkeimzahl des Ansatzes.

Zur Errechnung der Generationszeit wird folgende Formel benutzt (Squires und Hartsell):

$$G = \frac{\Delta t}{k \times (\log B - \log A)}$$

Dabei ist: G = Generationszeit in Stunden

$$\Delta t = t_2 - t_1$$

B = Keimzahl/ml zum Zeitpunkt t_2

A = Keimzahl/ml zum Zeitpunkt t_1

k = Konstante 3,32

(t_1 und t_2 müssen in der logarithmischen Wachstumsphase liegen).

Die mit dieser Formel errechnete Generationszeit wird von Stunden auf Minuten umgerechnet. Für die übersichtliche Darstellung der Ergebnisse wurde die Veränderung der Generationszeit durch die Testsubstanzen gegenüber der Kontrolle in Prozent umgerechnet.

4.) Bestimmung der Mutationsrate

Die Mutationsrate ist die Zahl der Mutanten pro Zelle pro Teilungszyklus. Diese Mutationsrate μ ist ein Maß für die Häufigkeit eintretender Mutationen.

Durch diese Versuche sollte dargetan werden, inwieweit die Testsubstanzen

die Mutationshäufigkeit verändern. wenn man die Chemoresistenz als Kriterium verwendet. Es ist dabei erforderlich, eine Methode zu benutzen, bei der die unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeit verschieden resistenter Varianten keine Rolle spielt.

Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen: Eine Bouillonkultur der Testkeime wird auf eine so geringe Keimzahl verdünnt, daß mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen ist, es sei keine Mutante in ihr enthalten. Läßt man diese wenigen Keime bei 37°C Celsius wieder wachsen und gibt bei makroskopisch sichtbarer Trübung (ca. 10^8 Keime) zu dieser Kultur eine Antibiotikum-Bouillon, die normalerweise kein Wachstum der bestimmten Keimart mehr gestattet, dann kann sich nur noch der Teil der etwa 10^8 Keime weitervermehren, der zu einer Form mutiert ist, die durch das Antibiotikum nicht mehr am Wachstum gehindert wird. Als Kontrolle wurde statt der Testsubstanz das gleiche Volumen Aqua bidest. zugegeben.

Versuchsanordnung :

Es wird eine Keimbouillon mit einer Konzentration von 50 Keimen/ml hergestellt. Diese wird bei 37°C 16 Stunden lang bebrütet. Nach dieser Zeitspanne wird mikroskopisch die Zellkonzentration bestimmt (s.o.) und die bebrütete Keimbouillon danach mit einer Bouillon auf 200 Keime/ml verdünnt, wobei die Bouillon die Testsubstanz in der gewünschten Konzentration enthält. Die Testsubstanz wird dabei natürlich in subbakteriostatischer Konzentration angewandt. Von der mit Testsubstanz-Bouillon auf 200 Keime/ml verdünnten Kultur wird nun in 103 Gläschen je 1 ml abgefüllt. Diese 103 Gläschen werden im Brutraum bei 37°C bebrütet, um die Keime unter dem Einfluß der Testsubstanz wachsen zu lassen. Die Kontrolle enthält anstatt der Testsubstanz das gleiche Volumen Aqua bidest.

Wird ein Wachstum makroskopisch sichtbar, dann bewegt sich die Zellkonzentration etwa im Bereich von 10^7 bis 10^8 Zellen/ml und liegt damit noch innerhalb der logarithmischen Wachstumsphase. Man zählt zu dieser Zeit die Zellkonzentration dreier Gläschen mikroskopisch aus. In die übrigen 100 Gläschen gibt man je 15 ml einer Antibiotikum enthaltenden Bouillon, die etwa die doppelte der gerade noch subbakteriostatisch wirksamen Antibiotikum-Konzentration enthält. Sind während der anfänglichen Bebrütung Mutanten in einem Gläschen entstanden, dann kann man in diesem innerhalb der nächsten 24 Stunden eine Trübung beobachten, da sich diese Keime weiter vermehren. Um das mögliche Wachstum dieser Keime genau verfolgen zu können, und um es gegen ein mögliches Nachlassen der Antibiotikumwirkung infolge der Wärme abgrenzen zu können, liest man die Werte möglichst mehrmals innerhalb der 24 Stunden ab.

Mit Hilfe der Formel von Newcombe

$$a = \frac{-(\ln 2) \times (\ln P_0)}{N}$$

kann man die Mutationsrate errechnen.

P_0 ist der Prozentsatz der Kulturen ohne Mutanten und

N ist die mittlere Keimzahl/ml. (Die Keimzahl muß mikroskopisch bestimmt werden.)

ERGEBNISSE

1.) Ergebnisse der einfachen Dilutionstests zur Feststellung einer antibakteriellen Wirkung der Testsubstanzen selbst

Um diejenigen Testsubstanzkonzentrationen zu ermitteln, die ein Keimwachstum gerade nicht mehr hemmen, wurden einfache Verdünnungsreihen folgender Keimarten gegen folgende Testsubstanzen durchgeführt:

M.pyogenes var.aureus Sg 511	)		TCI_1
M.pyogenes var.aureus 431	)		TCI_2
M.pyogenes var.aureus 40	)	Bei Zusatz von	TCI_4
E.coli	)		TCI_9
S.typhi	)		TCI_{13}

Die Ergebnisse sind in Tab.1 a-e wiedergegeben. Tab.1 ist zu entnehmen, daß TCI_2 und TCI_4 - je nach Keimart verschieden - einen zum Teil sehr deutlichen antibakteriellen Effekt haben. Die geringste Wirkung zeigen TCI_9 und TCI_{13} .

2.) Ergebnisse der Dilutionstests mit Wirkstoffkombinationen

- a) M.pyogenes var.aureus Sg 511 gegen Pc bei Zusatz von
1. TCI_1 in drei Konzentrationen (1 : 2 : 4)
 2. TCI_2 " " " (1 : 2 : 4)
 3. TCI_4 " " " (1 : 2 : 4)
 4. TCI_9 " " " (1 : 2 : 4)
 5. TCI_{13} " " " (1 : 2 : 4)

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß unterschwelliger TCl-Konzentrationen auf die Pc-Sensibilität des Stammes Sg 511 von *M. pyogenes* var. *aureus* untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.2 und Abb.1 wiedergegeben.

Tab.2 und Abb.1 ist zu entnehmen, daß TCl₄, TCl₉ und TCl₁₃ eine zum Teil beträchtliche Sensibilisierung bewirken. Dieser Effekt ist weniger ausgeprägt, wenn der 48-Stundenwert zur Beurteilung herangezogen wird. Es ist dabei aber zu bedenken, daß während einer zu langen Bebrütungszeit bei 37°C auch die zugegebene Pc-Konzentration nennenswert abnimmt, und daß eine Verbesserung der Ansprechbarkeit des Stammes Sg 511 auf Pc insofern schon ein bemerkenswerter Befund ist, als es sich bei diesem Stamm um einen ausgesprochen sensiblen Keim handelt. Die geringsten Effekte zeigen die Substanzen TCl₁ und TCl₂. Die Ergebnisse zeigen ferner, daß der Sensibilisierungseffekt eine Abhängigkeit von der TCl-Konzentration aufweist.

b) *M. pyogenes* var. *aureus* 431 gegen Pc bei Zusatz von

1. TCl₁ in drei Konzentrationen (1 : 2 : 4)
2. TCl₂ " " " (1 : 2 : 4)
3. TCl₄ " " " (1 : 2 : 4)
4. TCl₉ " " " (1 : 2 : 4)
5. TCl₁₃ " " " (1 : 2 : 4)

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß unterschwelliger TCl-Konzentrationen auf die Pc-Sensibilität des Penicillinase bildenden Stammes 431 von *M. pyogenes* var. *aureus* untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.3 und Abb.2 wiedergegeben.

Tab.3 und Abb.2 ist zu entnehmen, daß der Teststamm ebenso wie der Pc-sensible Stamm Sg 511 in Gegenwart von an sich unterschwelligen TCl-Konzentrationen besser auf Pc anspricht. Im ganzen gesehen spricht dieser resistente Stamm noch bedeutend mehr an als der Stamm Sg 511. Überdies ist zu sagen, daß der Stamm 431 auch auf TCl₁ anspricht, was bei Sg 511 in den gleichen Konzentrationen nicht oder kaum der Fall war. Außer TCl₁ ist bei dieser Versuchsserie TCl₉ und TCl₁₃ von allen Testsubstanzen am wenigsten wirksam.

c) *M. pyogenes* var. *aureus* 40 gegen Pc bei Zusatz von

1. TCl₁ in drei Konzentrationen (1 : 2 : 4)
2. TCl₂ " " " (1 : 2 : 4)
3. TCl₄ " " " (1 : 2 : 4)
4. TCl₉ " " " (1 : 2 : 4)
5. TCl₁₃ " " " (1 : 2 : 4)

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß unterschwelliger TCl-Konzentrationen auf die Pc-Sensibilität des nicht Penicillinase bildenden Stammes 40 von *M. pyogenes* var. *aurus* untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.4 und Abb.3 wiedergegeben.

Tab.4 und Abb.3 ist zu entnehmen, daß auch dieser Stamm seine Ansprechbarkeit auf Pc in Gegenwart von TCl-Substanzen sehr deutlich erhöht. Wie bei den zuvor beschriebenen Versuchsserien gehört TCl₄ auch bei diesem Stamm zu den wirksamsten Substanzen. Ebenso ist auch TCl₉ und TCl₁₃ wieder am wenigsten wirkungsvoll. Hinzuweisen wäre noch darauf, daß bei einer längeren Bebrütung sich auch die Werte der Kontrollen verschieben.

d) *E. coli* gegen Streptomycin bei Zusatz von

- | | | |
|----------------------|-------------------------|-------------|
| 1. TCl ₁ | in drei Konzentrationen | (1 : 2 : 4) |
| 2. TCl ₂ | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 3. TCl ₄ | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 4. TCl ₉ | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 5. TCl ₁₃ | " " " | (1 : 2 : 4) |

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß unterschwelliger TCl-Konzentrationen auf die Sensibilität eines Stammes von *E.coli* gegenüber Streptomycin untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.5 und Abb.4 wiedergegeben.

Tab.5 und Abb.4 ist zu entnehmen, daß auch Coli-Bakterien durch die Testsubstanzen eine Sensibilitätssteigerung gegen Streptomycin erfahren. Wiederum ist TCl₄ eine der wirksamsten Substanzen dieser Gruppe.

e) *E.coli* gegen Chloromycetin bei Zusatz von

- | | | |
|----------------------|-------------------------|-------------|
| 1. TCl ₁ | in drei Konzentrationen | (1 : 2 : 4) |
| 2. TCl ₂ | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 3. TCl ₄ | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 4. TCl ₉ | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 5. TCl ₁₃ | " " " | (1 : 2 : 4) |

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß verschiedener TCl-Konzentrationen auf die Sensibilität eines Stammes von *E.coli* gegenüber Chloromycetin untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.6 und Abb.5 wiedergegeben.

Abb.5 und Tab.6 ist zu entnehmen, daß auch in diesem Fall wieder TCl₄ am wirksamsten ist, ein Effekt, der mit abnehmender Konzentration kleiner wird. Alle anderen Testsubstanzen zeigen bei den gewählten, selbst nicht bakteriostatisch wirksamen Konzentrationen kaum einen Effekt. Bei den Sub-

stanzen TCI_2 und TCI_1 ist jedoch, wenn man die höheren Konzentrationen betrachtet, eine Wachstumsverzögerung weit über die Hemmgrenze hinaus zu beobachten.

f) *S. typhi* gegen Pc bei Zusatz von

- | | | |
|----------------------|-------------------------|-------------|
| 1. TCI_1 | in drei Konzentrationen | (1 : 2 : 4) |
| 2. TCI_2 | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 3. TCI_4 | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 4. TCI_9 | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 5. TCI_{13} | " " " | (1 : 2 : 4) |

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß unterschwelliger TCI-Konzentrationen auf die Sensibilität eines Stammes von *S. typhi* gegenüber Pc untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.7 und Abb.6 wiedergegeben.

Tab.7 und Abb.6 ist zu entnehmen, daß die Pc-Sensibilität von *S. typhi* bei den gewählten Konzentrationen nur durch die höchste Konzentration von TCI_2 deutlich erhöht wird. Im ganzen lösten die Substanzen keine wesentliche Sensibilitätsveränderung aus. Die Hemmgrenzwerte lagen in vielen Fällen sogar in einem etwas höheren Bereich. Allerdings handelte es sich dabei höchstens um eine Verdünnungsstufe, was man gemeinhin noch als übliche Fehlergrenze bei solchen Testverfahren ansieht.

g) *S. typhi* gegen Chloromycetin bei Zusatz von

- | | | |
|----------------------|-------------------------|-------------|
| 1. TCI_1 | in drei Konzentrationen | (1 : 2 : 4) |
| 2. TCI_2 | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 3. TCI_4 | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 4. TCI_9 | " " " | (1 : 2 : 4) |
| 5. TCI_{13} | " " " | (1 : 2 : 4) |

In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß unterschwelliger TCI-Konzentrationen auf die Sensibilität eines Stammes von *S. typhi* gegenüber Chloromycetin untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab.8 und Abb.7 wiedergegeben.

Tab.8 und Abb.7 ist zu entnehmen, daß die Werte der Kontrolle, d.h. der Ansätze ohne Testsubstanzen, Schwankungen um 2 Verdünnungsstufen aufweisen. Deswegen ist es verständlich, daß nicht mit Sicherheit ein zusätzlicher Effekt festgelegt werden kann. Allerdings ist zu sagen, daß über die Hemmgrenze der Kontrolle hinaus durch die höheren Konzentrationen von TCI_4 , TCI_2 und TCI_1 eine Verzögerung des Keimwachstums festgestellt werden kann.

3.) Ergebnisse der Bestimmung der Generationszeit

Alle 5 Bakterienstämme (3 Staphylokokken-Stämme, sowie je ein Stamm von *E.coli* und *S.typhi*) wurden untersucht, ob sich die Generationszeit in Gegenwart verschiedener Konzentrationen der 5 Testsubstanzen verändert.

Auch bei dieser Versuchsserie sollte so vorgegangen werden, daß möglichst hohe TCI -Konzentrationen gewählt wurden, die aber mit Sicherheit noch unter den bakterio statischen Werten liegen. Die Vorversuche ergaben aber, daß bei diesen Konzentrationen das Wachstum zu sehr beeinträchtigt wurde, weshalb etwas niedrigere Konzentrationen als bei den Dilutionstests benutzt wurden. Die Konzentrationen sind im einzelnen auf den Tabellen und Abbildungen angegeben.

Die Ergebnisse der ersten Serie mit dem Pc-sensiblen Stamm Sg 511 von *M.pyogenes* var. *aureus* sind in Abb.8-11 wiedergegeben. Dabei wurde die zu den verschiedenen Zeiten des Keimwachstums gemessene Lebendkeimzahl auf logarithmischer Ordinate gegen die Zeit in Stunden auf der Abszisse angegeben.

Die prozentuale Abweichung der Berechnung der Generationszeit bei Zusatz von Testsubstanzen gegenüber der Kontrolle ist in Abb.12 wiedergegeben.

Abb.8-12 ist zu entnehmen, daß in Gegenwart von Testsubstanzen, gleichgültig um welche Form es sich handelt, die Wachstumsgeschwindigkeit zum Teil sehr beachtlich beeinträchtigt wird. Dies geht auch aus der Berechnung der Generationszeit hervor. Jedoch ist diese nicht unbedingt allein maßgeblich für die Beurteilung des Kurvenablaufs. Abb.9 ist zu entnehmen, daß bei Verwendung von 5 mg/ml TCI_2 die Berechnung kürzere Werte ergibt gegenüber der Kontrolle, obwohl der Kurvenverlauf des Wachstums völlig abnorm ist. Dieser zeichnet sich dadurch aus, daß die Latenzphase deutlich verlängert ist und der Gipfel früher als in der Kontrolle erreicht wird. Diese Erscheinung ist gelegentlich auch bei anderen Versuchen zu beobachten. Deshalb darf in der graphischen Darstellung der prozentualen Abweichung von der Kontrolle die Verringerung der Generationszeit nicht als eine eigentliche Wachstumsbeschleunigung angesehen werden, zumal die absolute Keimzahl weit unter den Werten der Kontrolle bleibt. Sonst entsprechen die Angaben von Abb.12 durchaus dem Eindruck, den man bei Betrachtung der Kurven gewinnt.

Die Ergebnisse mit dem Penicillinase-Bildner 431 von *M.pyogenes* var. *aureus* sind den Resultaten mit dem Stamm Sg 511 durchaus vergleichbar (Abb.13-17).

Ebenso deutlich ist diese Wachstumsbeeinträchtigung mit dem nicht Penicillinase bildenden Staphylokokken-Stamm zu sehen (Abb.18-22). Auch E.coli (Abb.23-27) und S.typhi (Abb.28-32) zeigen dieselbe Erscheinung.

Damit kann also gesagt werden, daß alle untersuchten Bakterienstämme auf die verschiedenen Testsubstanzkonzentrationen im Sinne einer Erhöhung der Generationszeit reagieren. Diese Erscheinung ist konzentrationsabhängig. Die Empfindlichkeit der einzelnen Stämme variiert etwas. Allerdings kann keine vergleichende Aussage über die Substanzen untereinander gemacht werden, es sei denn, man beschränkt sich auf die Feststellung, daß bis auf den Stamm von S.typhi die Wirkung von TCI_9 und TCI_{13} weit geringer ist als bei den anderen Testsubstanzen.

4.) Ergebnisse der Bestimmung der Mutationsrate

Es interessierte für einzelne Beispiele, ob auch die für einen gegebenen Stamm natürliche Mutationsrate bei gleichen Umweltsbedingungen durch die Testsubstanzen beeinflusst wird. Als Beispiel wurde die Mutationsrate eines Stammes von E.coli gegen Streptomycin-Resistenz in Anwesenheit der 5 Testsubstanzen untersucht. Zur Auswertung wurde der Prozentsatz der nach 24 stündiger Bebrütung ausgezählten bewachsenen Kulturen herangezogen. Außer einer Kontrolle ohne Testsubstanz wurden 5 Serien mit

2 mg/ml TCI_1
 2,5 mg/ml TCI_2
 7,1 mg/ml TCI_4
 1 mg/ml TCI_9
 1 mg/ml TCI_{13}

durchgeführt.

Der Prozentsatz bewachsener Kulturen war bei dieser Versuchsserie in derselben Reihenfolge:

80, 23, 43, 30, 34 und 30 %.

Danach errechnet sich die Mutationsrate nach der Formel

$$a = \frac{-(\ln 2) \times (\ln P_0)}{N} \quad (\text{s.o.})$$

mit	$1,7 \times 10^{-10}$	beim Versuch mit	TCI_1
	$1,4 \times 10^{-10}$	"	"
	$2,3 \times 10^{-10}$	"	"
	$1,6 \times 10^{-10}$	"	"
	$1,6 \times 10^{-10}$	"	"

gegenüber der Kontrolle mit $3,0 \times 10^{-10}$.

Es kann also gesagt werden, daß die Gegenwart aller TCl-Substanzen zu einer Reduktion der Mutationsrate und damit zu einer Verzögerung des Resistenzanstiegs geführt haben. Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von Gillissen und Storbeck mit einem Staphylokokken-Stamm überein.

DISKUSSION

Die Versuche ergaben, daß die verschiedenen Verbindungen von Theophyllin, die benutzt worden sind, allein schon einen bakteriostatischen Effekt haben können. Diese Wirkung variiert mit der Art des Bakterienstammes und mit der Testsubstanz. Die halogenierten Verbindungen waren von allen getesteten Substanzen in dieser Hinsicht praktisch wirkungslos, da sie auch bei Konzentrationen von 50 mg/ml noch keine Bakteriostase auslösten, wenn mit den üblichen Dilutionstests die Endwerte bestimmt wurden.

Ferner ergaben die Versuche sehr eindeutig, daß alle Verbindungen den Pc-Effekt gegen sensible und resistente Stämme erhöhten. Dabei ist allerdings zu sagen, daß die Wirkung der Testsubstanzen untereinander nur in wenigen Fällen verglichen werden kann, da bei den Untersuchungen gemeinhin Konzentrationen angewandt wurden, die ziemlich nahe an der Hemmgrenze lagen. Dies war insofern erforderlich, als Hemmkonzentrationen der Theophyllin-Verbindungen bei der Austestung gegen Antibiotika nicht benutzt werden konnten. Da aber von diesen Anfangskonzentrationen ausgehend auch noch Bruchteile davon zur Anwendung kamen, ergaben sich manchmal bei verschiedenen Substanzen gleiche oder fast gleiche molare Konzentrationen. Deswegen kann beispielsweise gesagt werden, daß TCl_4 die Pc-Sensibilität des Stammes Sg 511 mehr erhöht als TCl_2 , oder daß bei demselben Stamm TCl_9 und TCl_{13} fast gleich bzw. gleich wenig wirksam sind. Ebenfalls bei Sg 511 entsprechen sich TCl_2 und TCl_1 .

Die Bestimmung der Generationszeit ergab eindeutig bei allen Testsubstanzen und bei allen Bakterienstämmen eine Verlangsamung der Vermehrung, d.h. eine Erhöhung der Generationszeit. Diese Erscheinung ist konzentrationsabhängig. Danach ist erklärlich, daß bei manchen Testreihen der Kombinationseffekt von Theophyllin und Antibiotikum über die eigentliche

Hemmgrenze hinaus noch über eine Reihe weiterer Verdünnungsstufen das Keimwachstum verzögert.

Die Verlängerung der Generationszeit geht - wie am Beispiel von Coli-Bakterien und Streptomycin-Resistenz als Kriterium gezeigt wurde - mit einer Verringerung der Mutationsrate einher. Dieses Phänomen ist insofern interessant, als bei Bakterienstämmen die resistenten Varianten einer Population sich gegenüber dem sensiblen Anteil durch eine größere Generationszeit auszeichnen.

ZUSAMMENFASSUNG

Faßt man die Untersuchungen der Testsubstanzen auf ihren bakteriostatischen Effekt gegenüber verschiedenen Bakterienstämmen (*M. pyogenes* var. *aureus* Sg 511, *M. pyogenes* var. *aureus* 431, *M. pyogenes* var. *aureus* 40, *E. coli* und *S. typhi*) zusammen, so sieht man, daß dieser mit der Keimart und mit der benützten Verbindung variiert. Alle Testsubstanzen erhöhen die Chemosensibilität von Staphylokokken-Stämmen verschiedener Resistenz gegen Pc. Dies ist auch der Fall bei Coli-Bakterien gegen Streptomycin, weniger oder nicht bei Coli-Bakterien gegen Chloromycetin. Kaum einen Effekt zeigen die Testsubstanzen bei Typhusbakterien gegen Pc bzw. gegen Chloromycetin. Der Kombinationseffekt kann dabei als relativ bezeichnet werden.

Die Generationszeit der benutzten Keime wurde durch alle Testsubstanzen verlängert, und - wie an einem Beispiel gezeigt wurde - die Mutationsrate verringert.

LITERATUR

1. Gillissen, G. u. W. Storbeck
Arzneimittel-Forsch. 10, 719 (1960)
2. Gillissen, G. u. W. Storbeck
Naturwiss. 47/9, 209 (1960)
3. Gillissen, G. u. W. Storbeck
Z. Hyg. 146, 552 (1960)
4. Gillissen, G. u. W. Storbeck
Naturwiss. 48/1, 26 (1961)
5. Gillissen, G., S. Carlson u. W. Storbeck
Arzneimittel-Forsch. 10, 804 (1960)
6. Linz, A. u. E. Lecocq
C. R. Soc. Biol. (Paris) 145, 143 (1951)
7. Mayr-Harting, A.
J. gen. Microbiol. 13, 9 (1955)
8. Novick, A. u. L. Scillard
Nature (London) 170, 926 (1953)
9. Squires, R. W. u. S. E. Hartsell
J. Bact. 69, 226 (1955)
10. Welsch, M.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 143, 1282 (1949)

- Tab. 1 -

Der antibakterielle Effekt der Testsubstanzen gegen die Teststämme

a) Die Wirkung von TCI_1

mg/ml TCI_1	20	10	5	2,5	1,25	0,62
Sg 511	+	+	+++	+++	+++	+++
431	+	+	+++	+++	+++	+++
40	-	+	++	+++	+++	+++
E. coli	+	+	+++	+++	+++	+++
S. typhi	-	-	+	+	++	+++

b) Die Wirkung von TCI_2

mg/ml TCI_2	100	50	25	12,5	6,2	3,1
Sg 511	-	+	+	+++	+++	+++
431	+	+	+	+++	+++	+++
40	-	-	-	+	+++	+++
E. coli	-	-	-	+	+++	+++
S. typhi	-	-	-	-	+	+++

c) Die Wirkung von TCI_4

mg/ml TCI_4	143	71,5	35,7	17,8	8,9	4,4
Sg 511	-	+	+	+	+++	+++
431	-	+	+	+++	+++	+++
40	-	-	+	+	+++	+++
E. coli	-	-	+	+	+++	+++
S. typhi	-	-	-	-	+	+++

d) Die Wirkung von TCI_9

mg/ml TCI_9	50	25	12,5	6,2	3,1	1,55
Sg 511	+	+	+++	+++	+++	+++
431	+	++	+++	+++	+++	+++
40	+	++	+++	+++	+++	+++
E. coli	+	+	+++	+++	+++	+++
S. typhi	-	+	++	+++	+++	+++

e) Die Wirkung von TCI_{13}

mg/ml TCI_{13}	50	25	12,5	6,2	3,1	1,55
Sg 511	+	+	+++	+++	+++	+++
431	+	++	+++	+++	+++	+++
40	++	+++	+++	+++	+++	+++
E. coli	+	+	++	+++	+++	+++
S. typhi	-	+	+++	+++	+++	+++

- Tab.2 -

Der Einfluß subbakteriostatischer TCl-Konzentrationen auf die
Pc-Sensibilität von *M. pyogenes* var. *aureus* S. 511

Test- substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Mittlere Pc-Sensibilität in E Pc/ml. Ablesungswerte nach	
			24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TCl)	—	—	0,04	0,04
TCl ₄	71	0,17	0,0028	0,0235
TCl ₂	50	0,167	0,0116	0,0116
TCl ₄	35,5	0,085	0,0235	0,0235
TCl ₂	25	0,083	0,04	0,04
TCl ₄	17,7	0,042	0,0116	0,0116
TCl ₂	12,5	0,041	0,0235	0,0235
TCl ₁	10	0,040	0,0235	0,0235
TCl ₁	5	0,020	0,04	0,04
TCl ₁	2,5	0,010	0,0235	0,04
TCl ₉	2,5	0,005	0,0028	0,0116
TCl ₁₃	2,5	0,0045	0,0058	0,0116
TCl ₉	1,25	0,0025	0,0058	0,0116
TCl ₁₃	1,25	0,0022	0,0116	0,0116
TCl ₉	0,62	0,0012	0,0058	0,0116
TCl ₁₃	0,62	0,0011	0,0116	0,0116

Abb.1

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Pc-Sensibilität des *M. pyogenes* var. *aureus* Sg 511

Test-Substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	E Pc/ml									
			0,125	0,062	0,031	0,0155	0,00775	0,00387	0,00193			
TC1 ₄	71	0,17	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	50	0,167	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₄	35,5	0,085	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	25	0,083	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₄	17,7	0,042	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	12,5	0,041	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	10	0,040	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	5	0,020	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	2,5	0,010	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	2,5	0,005	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	2,5	0,0045	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	1,25	0,0025	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	1,25	0,0022	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	0,62	0,0012	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	0,62	0,0011	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====

Zeichenerklärung: =====: Hemmung des Keimwachstums. (Die obere Doppellinie bedeutet jeweils das Ergebnis nach 24-std. Ablesung, die untere D. das nach 48-std. Ablesung). ———: Erfolgt Keimwachstum
 mmmmm: Starkes Keimwachstum

--- Tab.3 ---

Der Einfluß subbakteriostatischer TCl-Konzentrationen auf die
Pc-Sensibilität von *S. pyogenes* var. *aureus* 431

Test- substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Mittlere Pc-Sensibilität in E Pc/ml. Ablesungswert nach	
			24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TCl)	---	---	234	234
TCl ₄	71	0,17	7,3	7,3
TCl ₂	50	0,167	1,81	3,64
TCl ₄	35,5	0,085	7,3	14,62
TCl ₂	25	0,083	14,62	14,62
TCl ₄	17,7	0,042	3,64	58,5
TCl ₂	12,5	0,041	14,62	14,62
TCl ₁	10	0,04	3,64	14,62
TCl ₁	5	0,02	29,25	58,5
TCl ₁	2,5	0,01	29,25	58,5
TCl ₉	2,5	0,005	58,5	58,5
TCl ₁₃	2,5	0,0045	29,25	58,5
TCl ₉	1,25	0,0025	58,5	58,5
TCl ₁₃	1,25	0,0022	29,25	58,5
TCl ₉	0,62	0,0012	58,5	234
TCl ₁₃	0,62	0,0011	58,5	117

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Po-Sensibilität des *M. pyogenes* var. *aureus* 431

Test-Substanz	mg/ml Substanz	MCl. Konz.	E Po/ml									
			625	312	156	78	39	19,5	9,75	4,87	2,43	1,21
TC1 ₄	71	0,17	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	50	0,167	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₄	35,5	0,085	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	25	0,083	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₄	17,7	0,042	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	12,5	0,041	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	10	0,04	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	5	0,02	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	2,5	0,01	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	2,5	0,005	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	2,5	0,0045	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	1,25	0,0025	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	1,25	0,0022	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	0,62	0,0012	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	0,62	0,0011	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====

Zeichenerklärung: =====: Hemmung des Keimwachstums. (Die obere Doppellinie bedeutet jeweils das Ergebnis nach 24-std. Ablesung, die untere D. das nach 48-std. Ablesung).
 =====: Erfolgt Keimwachstum
 mmmmm: Starkes Keimwachstum

Der Einfluss subbakteriostatischer TCl-Konzentrationen auf die
Pc-Sensibilität von . . pyogenes var. aureus 40

Test- substanz	mg/ml Substanz	ol. Konz.	Mittlere Pc-Sensibilität in T Pc/ml. Ablesungswerte nach	
			24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TCl)	—	—	2,39	23,25
TCl ₄	35,5	0,085	unter 0,045	0,18
TCl ₄	17,7	0,042	0,36	0,36
TCl ₂	12,5	0,041	0,18	0,36
TCl ₁	10	0,04	1,44	1,44
TCl ₄	8,8	0,021	2,89	2,89
TCl ₂	6,2	0,02	2,89	2,89
TCl ₁	5	0,02	5,8	5,8
TCl ₂	3,1	0,01	1,44	5,8
TCl ₁	2,5	0,01	5,8	11,62
Kontrolle (kein TCl)	—	—	11,62	93
TCl ₉	2,5	0,005	5,8	46,5
TCl ₁₃	2,5	0,0045	5,8	93
TCl ₉	1,25	0,0025	2,89	23,25
TCl ₁₃	1,25	0,0022	2,89	46,5
TCl ₉	0,62	0,0012	2,89	46,5
TCl ₁₃	0,62	0,0011	2,89	46,5

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Po-Sensibilität des M. pyogenes var. aureus 40

Test- substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Po/ml	250	125	62	31	15,5	7,75	3,87	1,93	0,96	0,48	0,24	0,12	0,06
TC1 ₄	35,5	0,085														
TC1 ₄	17,7	0,042														
TC1 ₂	12,5	0,041														
TC1 ₁	10	0,04														
TC1 ₄	8,8	0,021														
TC1 ₂	6,2	0,02														
TC1 ₁	5	0,02														
TC1 ₂	3,1	0,01														
TC1 ₁	2,5	0,01														
TC1 ₉	2,5	0,005														
TC1 ₃	2,5	0,004														
TC1 ₉	1,25	0,0025														
TC1 ₁₃	1,25	0,0022														
TC1 ₉	0,62	0,0012														
TC1 ₁₃	0,62	0,0011														

Zeichenerklärung: s. Abbildung 1

Der Einfluß subbakteriostatischer TC1-Konzentrationen auf die Streptomycin-Sensibilität eines Stammes von E. coli

Test-substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Mittlere Streptomycin-Sensibilität in μ Str./ml. Ablesungswerte nach	
			24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TC1)	—	—	1,44	1,44
TC1 ₄	35,5	0,085	0,045	0,045
TC1 ₄	17,7	0,042	0,09	0,36
TC1 ₂	12,5	0,041	0,045	0,09
TC1 ₁	10	0,04	0,18	0,36
TC1 ₄	8,8	0,021	0,18	0,18
TC1 ₂	6,2	0,02	0,09	0,18
TC1 ₁	5	0,02	0,09	0,36
TC1 ₂	3,1	0,01	0,36	0,36
TC1 ₁	2,5	0,01	0,18	0,18
TC1 ₉	2,5	0,005	0,72	0,72
TC1 ₁₃	2,5	0,0045	0,72	0,72
TC1 ₉	1,25	0,0025	0,36	0,36
TC1 ₁₃	1,25	0,0022	0,36	0,36
TC1 ₉	0,62	0,0012	0,36	0,72
TC1 ₁₃	0,62	0,0011	0,72	0,72

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Streptomycin-Sensibilität eines Stammes von *E. coli*

Test-Substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	f-Strepto./ml	7,75	3,87	1,93	0,96	0,48	0,24	0,12	0,06	0,03	0,015
TC1 ₄	35,5	0,085											
TC1 ₄	17,7	0,042											
TC1 ₂	12,5	0,041											
TC1 ₁	10	0,04											
TC1 ₄	8,8	0,021											
TC1 ₂	6,2	0,02											
TC1 ₁	5	0,02											
TC1 ₂	3,1	0,01											
TC1 ₁	2,5	0,01											
TC1 ₆	2,5	0,005											
TC1 ₁₃	2,5	0,0045											
TC1 ₉	1,25	0,0025											
TC1 ₁	1,25	0,0022											
TC1 ₂	0,62	0,0012											
TC1 ₁₃	0,62	0,0011											

Zeichenerklärung: s. Abb. 1

- Tab.6 -

Der Einfluss subbakteriostatischer TCl-Konzentrationen auf die
Chloromycetin-Sensibilität eines Stammes von E. coli

Test- substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Mittlere Chloromycetin-Sensibi- lität in Chlorom./ml	
			Ablesungswerte nach 24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TCl)	---	---	232,5	232,5
TCl ₄	35,5	0,085	0,45	0,45
TCl ₄	17,7	0,042	3,6	3,6
TCl ₂	12,5	0,041	58	58
TCl ₁	10	0,04	116,2	232,5
TCl ₄	8,8	0,021	116,2	116,2
TCl ₂	6,2	0,02	116,2	116,2
TCl ₁	5	0,02	232,5	232,5
TCl ₂	3,1	0,01	116,2	232,5
TCl ₁	2,5	0,01	232,5	232,5
TCl ₉	2,5	0,005	232,5	232,5
TCl ₁₃	2,5	0,0045	232,5	232,5
TCl ₉	1,25	0,0025	232,5	232,5
TCl ₁₃	1,25	0,0022	232,5	232,5
TCl ₉	0,62	0,0012	232,5	232,5
TCl ₁₃	0,62	0,0011	232,5	232,5

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Chloromycetin-Sensibilität eines Stammes von *E. coli*

Test-Substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Chlorom./ml														
			250	620	310	155	77,5	38,7	19,3	9,6	4,8	2,4	1,2	0,6	0,3		
TC1 ₄	35,5	0,085															
TC1 ₄	17,7	0,042															
TC1 ₂	12,5	0,041															
TC1 ₁	10	0,04															
TC1 ₄	8,3	0,021															
TC1 ₂	6,2	0,02															
TC1 ₁	5	0,02															
TC1 ₂	3,1	0,01															
TC1 ₁	2,5	0,01															
TC1 ₂	2,5	0,005															
TC1 ₁	1,5	0,0045															
TC1 ₂	1,25	0,0025															
TC1 ₁	1,25	0,0022															
TC1 ₂	0,62	0,0012															
TC1 ₁	0,62	0,0011															

Zeichenerklärung: s. Abb. 1

- Tab.7 -

Der Einfluß subantagonistischer TC1-Konzentrationen auf die
Pc-Sensibilität eines Stammes von S. typhi

Test- substanz	mg/ml substanz	Mol. Konz.	Mittlere Pc-Sensibilität in E Pc/ml. Ablesungswerte nach	
			24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TC1)	—	—	0,289	0,289
TC1 ₄	8,8	0,021	0,144	0,58
TC1 ₂	6,2	0,02	0,036	0,58
TC1 ₁	5	0,02	0,289	0,58
TC1 ₄	4,4	0,01	0,58	0,58
TC1 ₂	3,1	0,01	0,289	0,58
TC1 ₁	2,5	0,01	0,58	0,58
TC1 ₉	2,5	0,005	0,289	0,58
TC1 ₁₃	2,5	0,0045	0,289	0,58
TC1 ₄	2,2	0,005	0,58	0,58
TC1 ₂	1,55	0,005	0,289	0,58
TC1 ₁	1,25	0,005	0,289	0,58
TC1 ₅	1,25	0,0025	0,289	0,289
TC1 ₁₃	1,25	0,0022	0,289	0,289
TC1 ₂	0,62	0,0112	0,289	0,289
TC1 ₁₃	0,62	0,0011	0,289	0,289

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Pe-Sensibilität eines Stammes von S. typhi

Test-Substanz	mg/ml Substanz	Vol. Konz.	E Po/ml					
			1,25	0,775	0,387	0,193	0,096	0,048
TC1 ₄	8,8	0,021						
TC1 ₂	6,2	0,02						
TC1 ₁	5	0,02						
TC1 ₄	4,4	0,01						
TC1 ₂	3,1	0,01						
TC1 ₁	2,5	0,01						
TC1 ₉	2,5	0,005						
TC1 ₁₃	2,5	0,0045						
TC1 ₄	2,2	0,005						
TC1 ₂	1,55	0,005						
TC1 ₁	1,25	0,005						
TC1 ₉	1,25	0,0025						
TC1 ₁₃	1,25	0,0022						
TC1 ₉	0,62	0,0012						
TC1 ₁₃	0,62	0,0011						

Zeichenerklärung: s. Abbl

Der Einfluß subbakteriostatischer TCl-Konzentrationen auf die Chloromycetin-Sensibilität eines Stammes von S. typhi

Test- substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	Mittlere Chloromycetin- Sensibilität in μ Chlorom./ml. Ablesungswerte nach	
			24 Stunden	48 Stunden
Kontrolle (kein TCl)	—	—	116,2	116,2
TCl ₄	8,8	0,02	116,2	116,2
TCl ₂	6,2	0,02	232,5	232,5
TCl ₁	5	0,02	232,5	232,5
TCl ₄	4,4	0,01	116,2	116,2
TCl ₂	3,1	0,01	116,2	116,2
TCl ₁	2,5	0,01	232,5	232,5
TCl ₄	2,2	0,005	232,5	232,5
TCl ₂	1,55	0,005	232,5	232,5
TCl ₁	1,25	0,005	232,5	232,5
Kontrolle (kein TCl)	—	—	28,9	28,9
TCl ₉	2,5	0,005	14,4	28,9
TCl ₁₃	2,5	0,0045	28,9	28,9
TCl ₉	1,25	0,0025	28,9	28,9
TCl ₁₃	1,25	0,0022	28,9	28,9
TCl ₉	0,62	0,0012	28,9	58,0
TCl ₁₃	0,62	0,0011	28,9	58,0

Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Chloromycetin-Sensibilität eines Stammes von *S. typhi*

Test-Substanz	mg/ml Substanz	Mol. Konz.	FChlorom./ml						
			620	310	155	77,5	38,7	19,3	9,6
TC1 ₄	8,8	0,02	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	6,2	0,02	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	5	0,02	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₄	4,4	0,01	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	3,1	0,01	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	2,5	0,01	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	2,5	0,005	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	2,5	0,0045	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₄	2,2	0,005	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₂	1,55	0,005	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁	1,25	0,005	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	1,25	0,0025	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	1,25	0,0022	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₉	0,62	0,0012	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
TC1 ₁₃	0,62	0,0011	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====

Zeichenerklärung: s. Abb. 1

Abb. 8

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* Sg 511 durch TCI_4

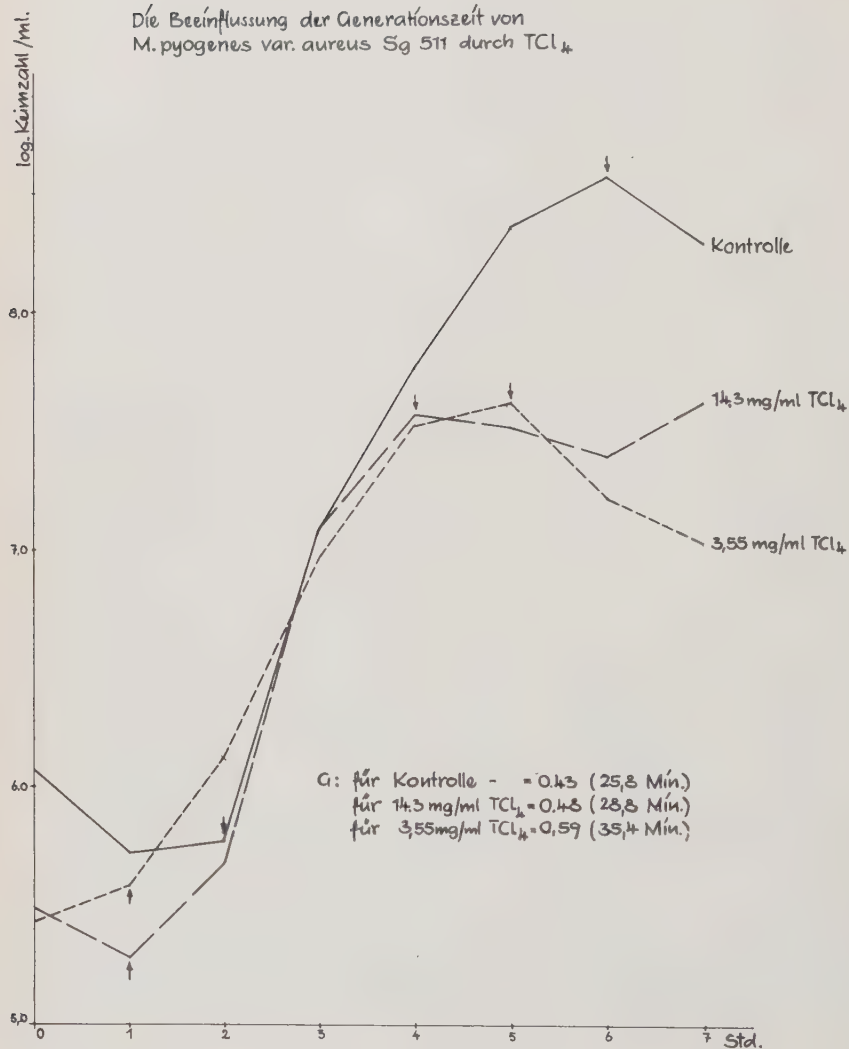


Abb. 9

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aurus* Sg 5:11 durch TCI_2

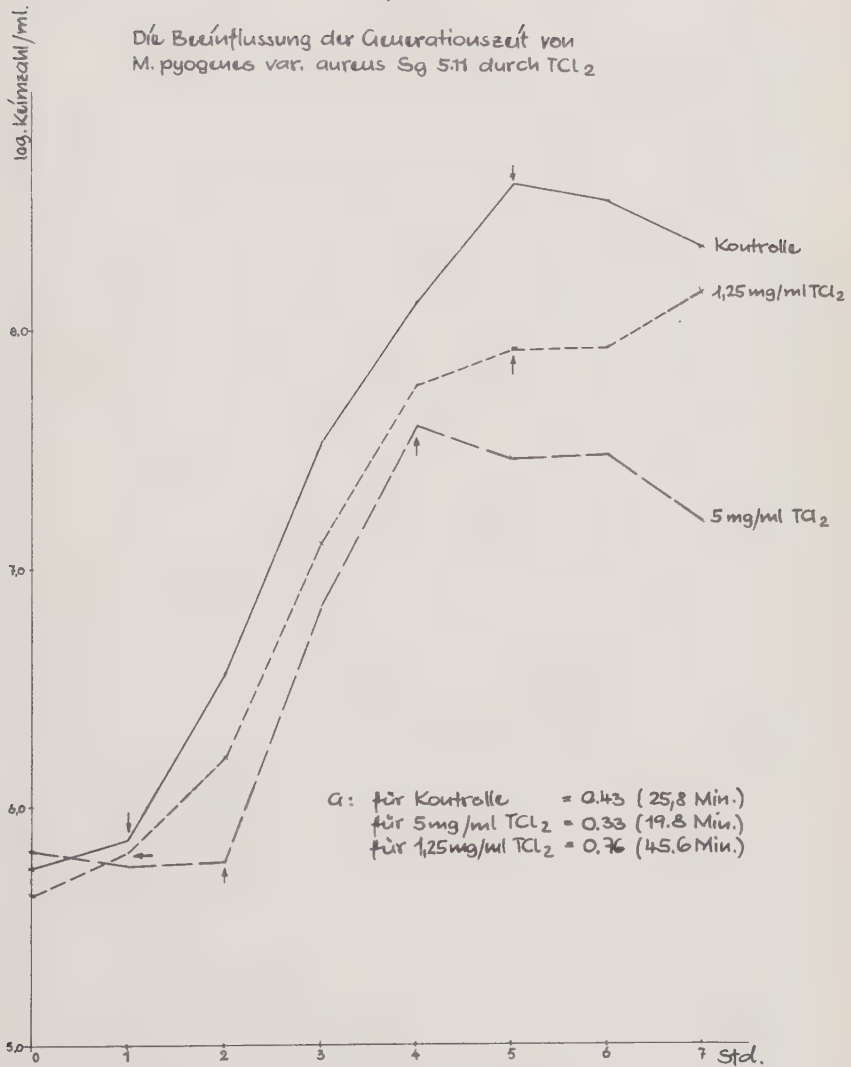


Abb. 10

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenus var. *aureus* Sg 511 durch TCl_1

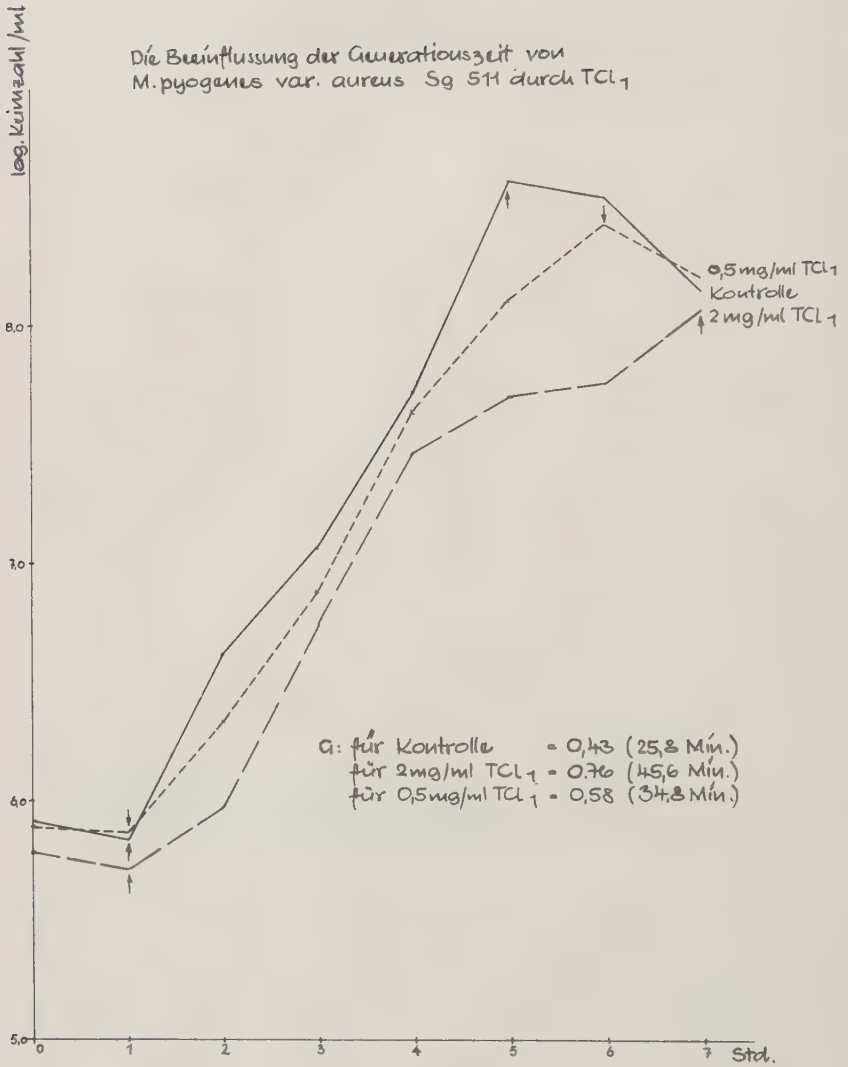
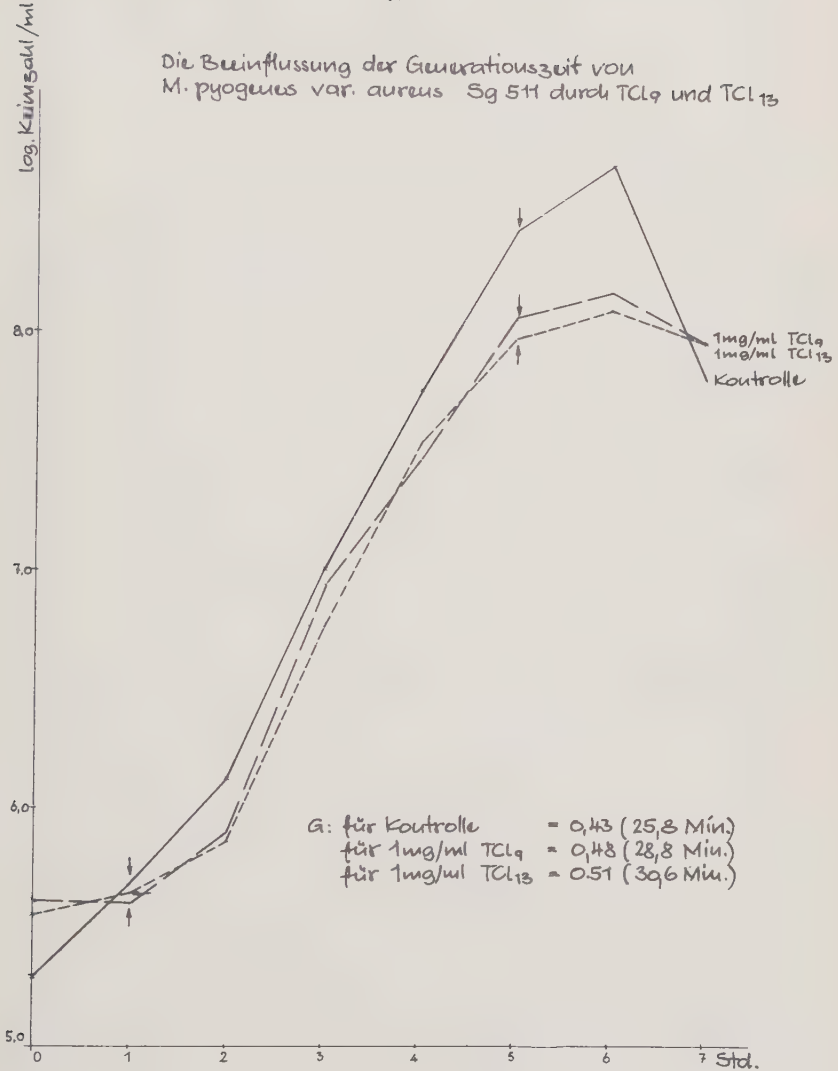


Abb. 11

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* Sg 511 durch TCl_9 und TCl_{13}



Graphische Darstellung des TCl-Effekts auf die Generationszeit des M. pyogenes var. aureus Sg 511

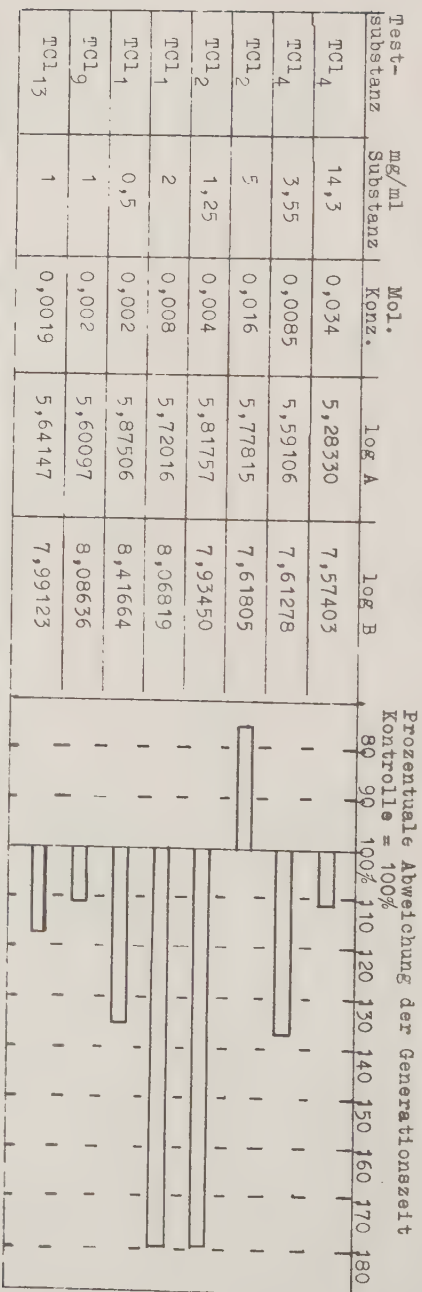


Abb.12

Zur Berechnung der Generationszeit wurden die Werte derjenigen Zeitabschnitte benutzt, die innerhalb der logarithmischen Wachstumsphase liegen.

TCl ₄	Von 1 Stunde bis 4 Stunden = +11%
TCl ₄	Von 1 Stunde bis 5 Stunden = +37%
TCl ₂	Von 2 Stunden bis 4 Stunden = -24%
TCl ₂	Von 1 Stunde bis 5 Stunden = +76%
TCl ₁	Von 1 Stunde bis 7 Stunden = +76%
TCl ₁	Von 1 Stunde bis 6 Stunden = +34%
TCl ₉	Von 1 Stunde bis 5 Stunden = +11%
TCl ₁₃	Von 1 Stunde bis 5 Stunden = +18%

Abb. 13

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* 431 durch TCI_4

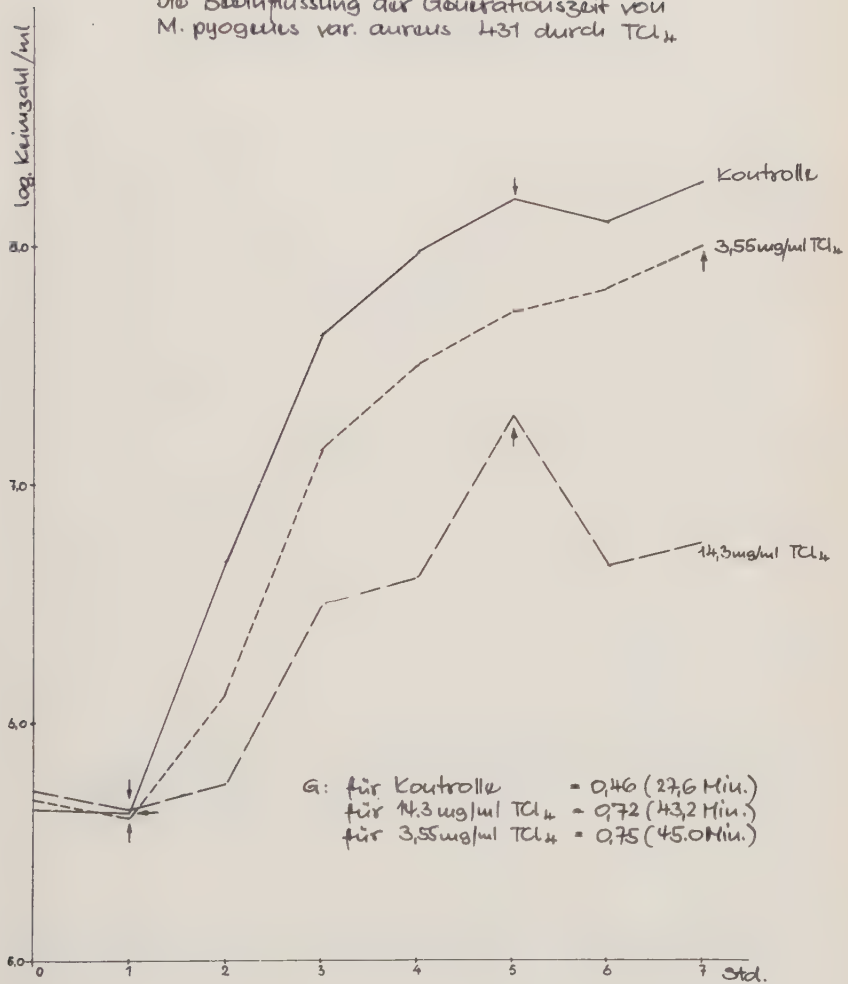


Abb. 14

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenus var. *aureus* 431 durch TCI_2

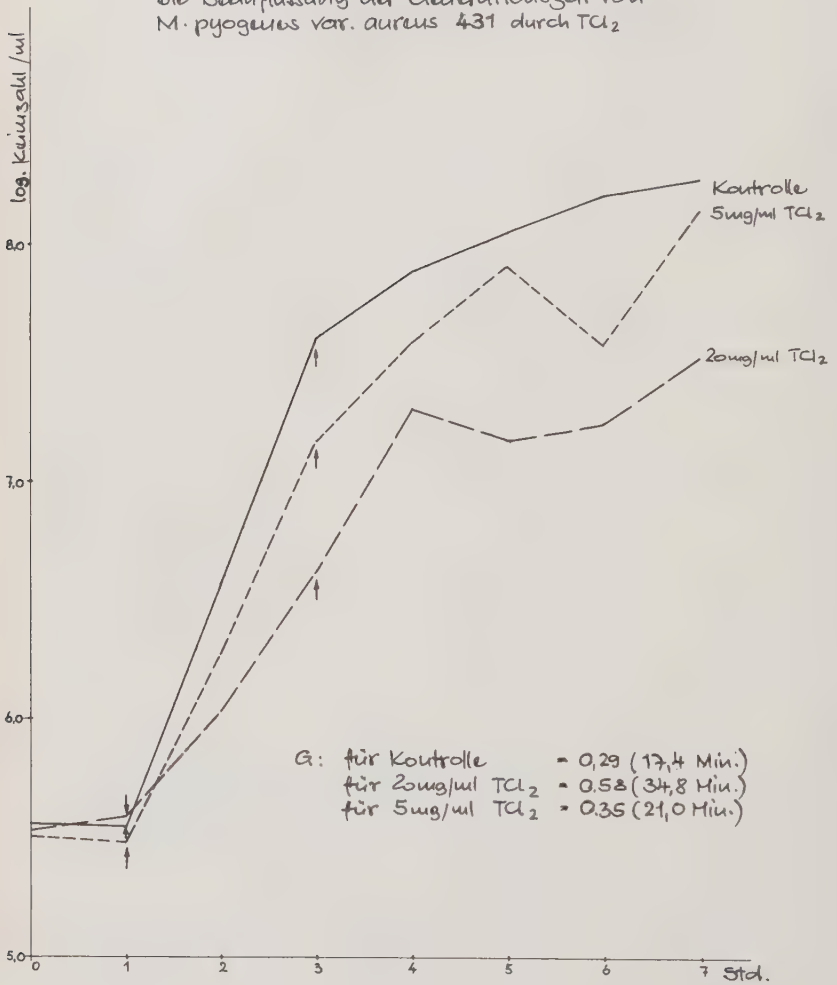


Abb. 15

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* 431 durch TCI_1

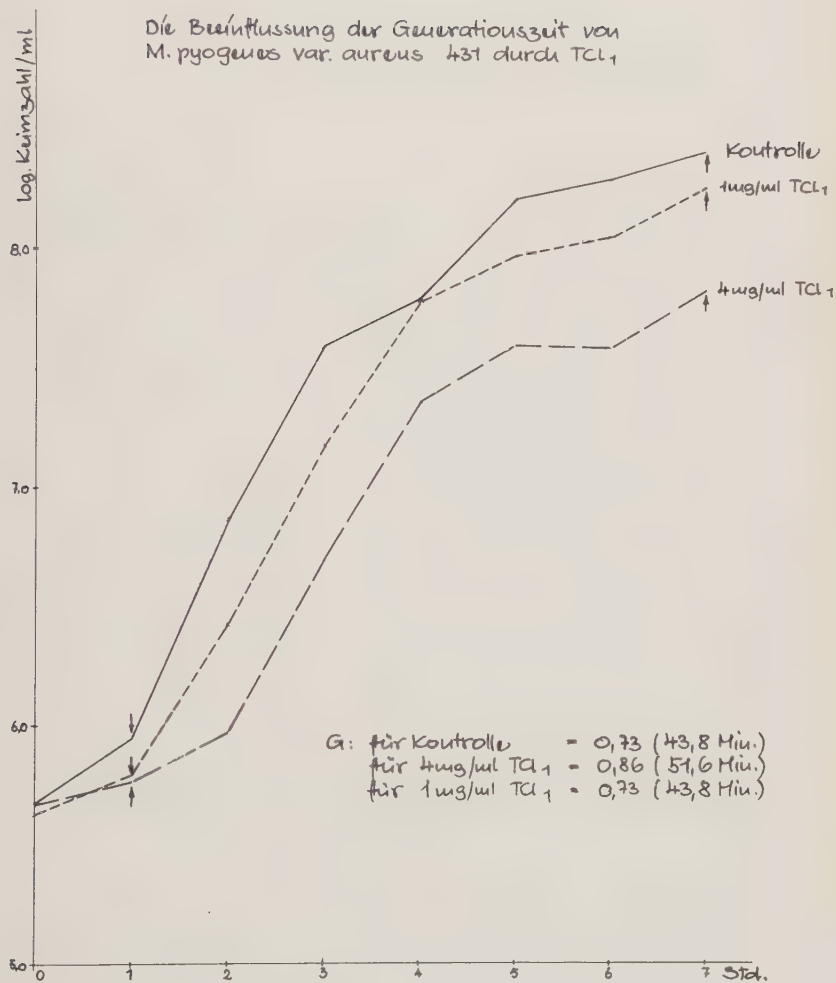


Abb. 16

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* ist durch TCI_9 und TCI_{13}

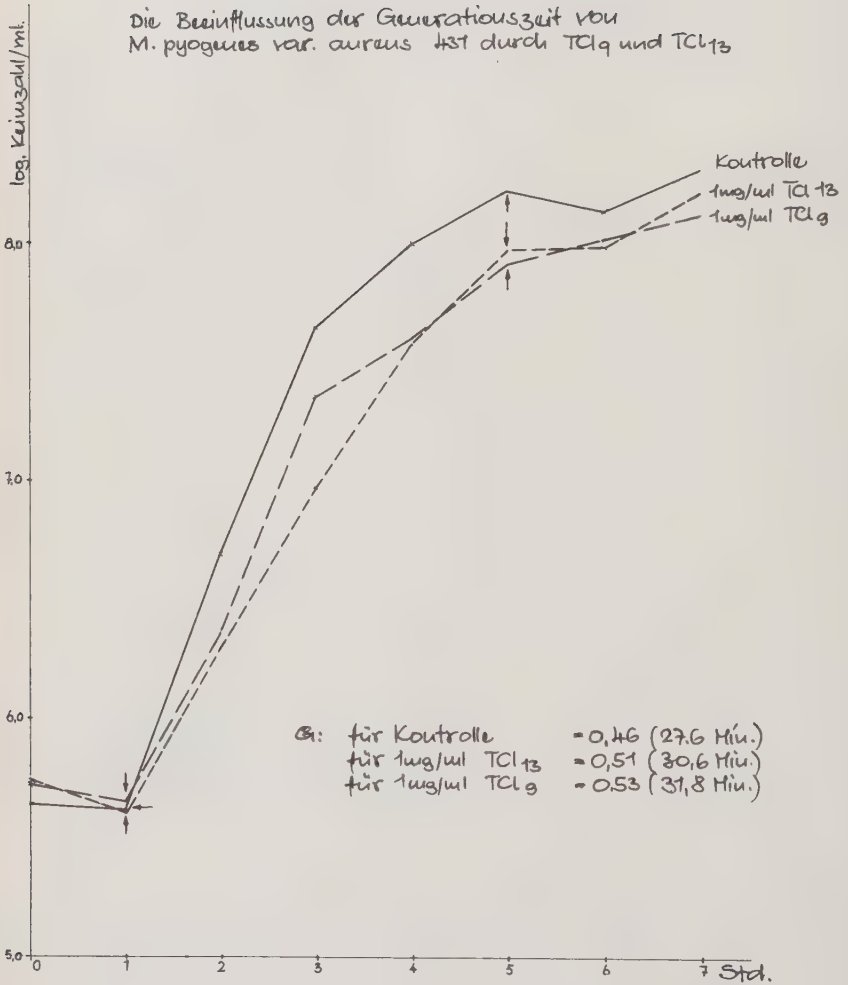


Abb.17

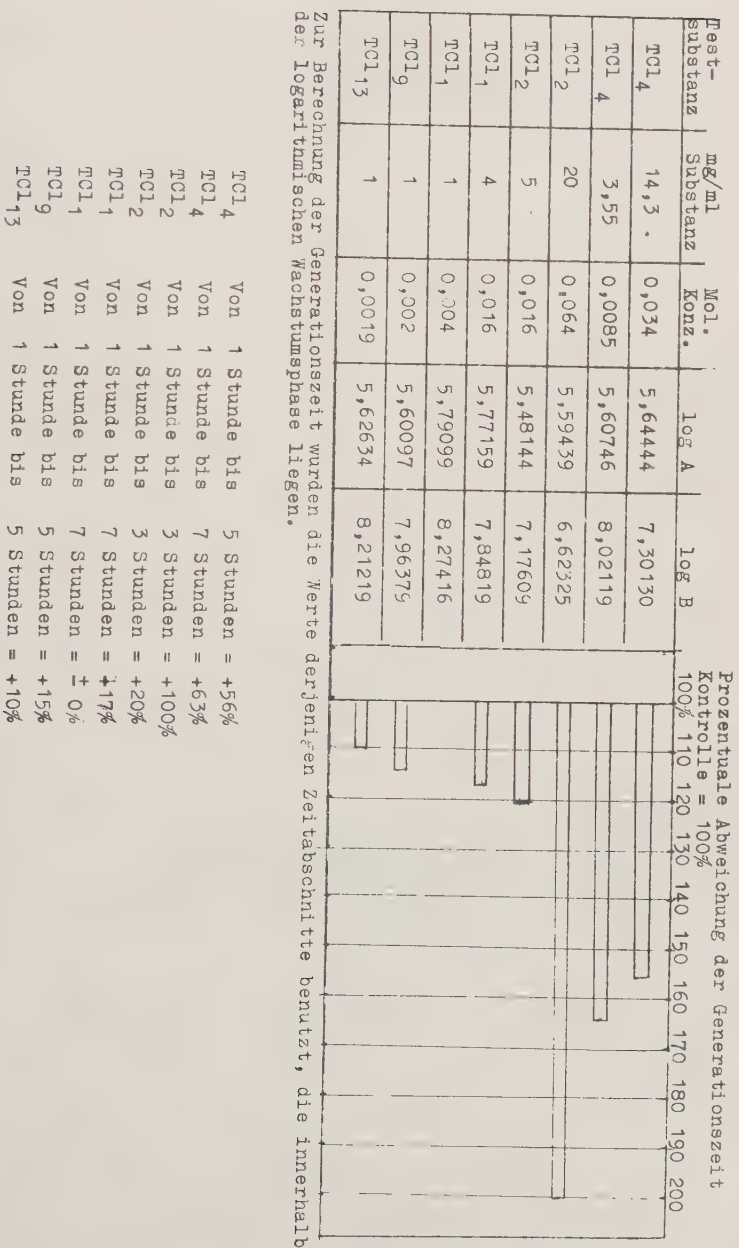


Abb. 18

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aëreus* $\pm$ durch TCI_4

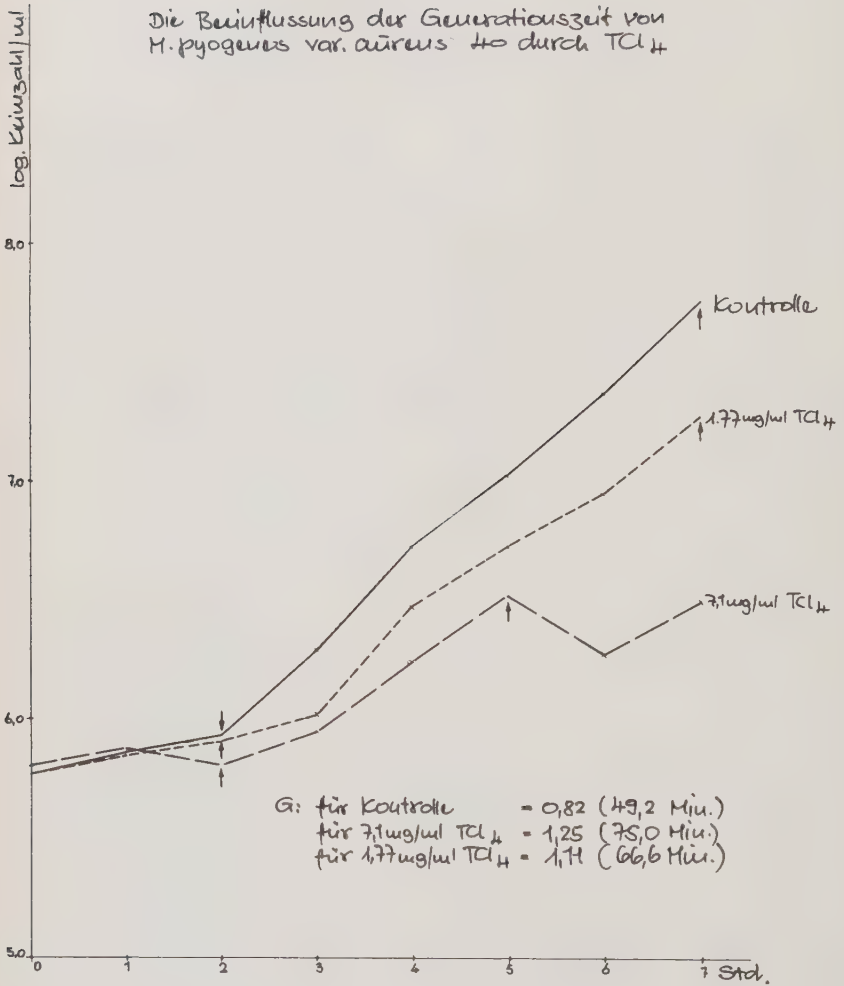


Abb. 19

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* H₀ durch TCI_2

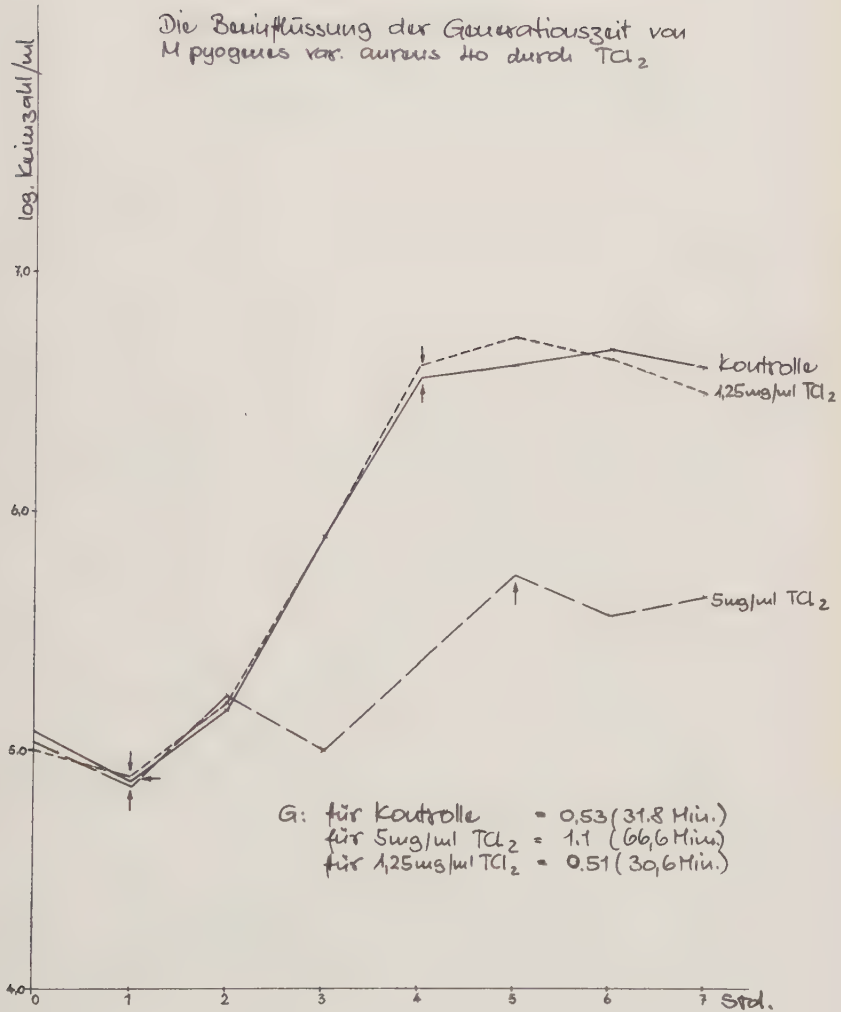


Abb. 20

Die Beeinflussung der Generationszeit von *M. pyogenes* var. *aureus* ~~ho~~ durch TCI_1

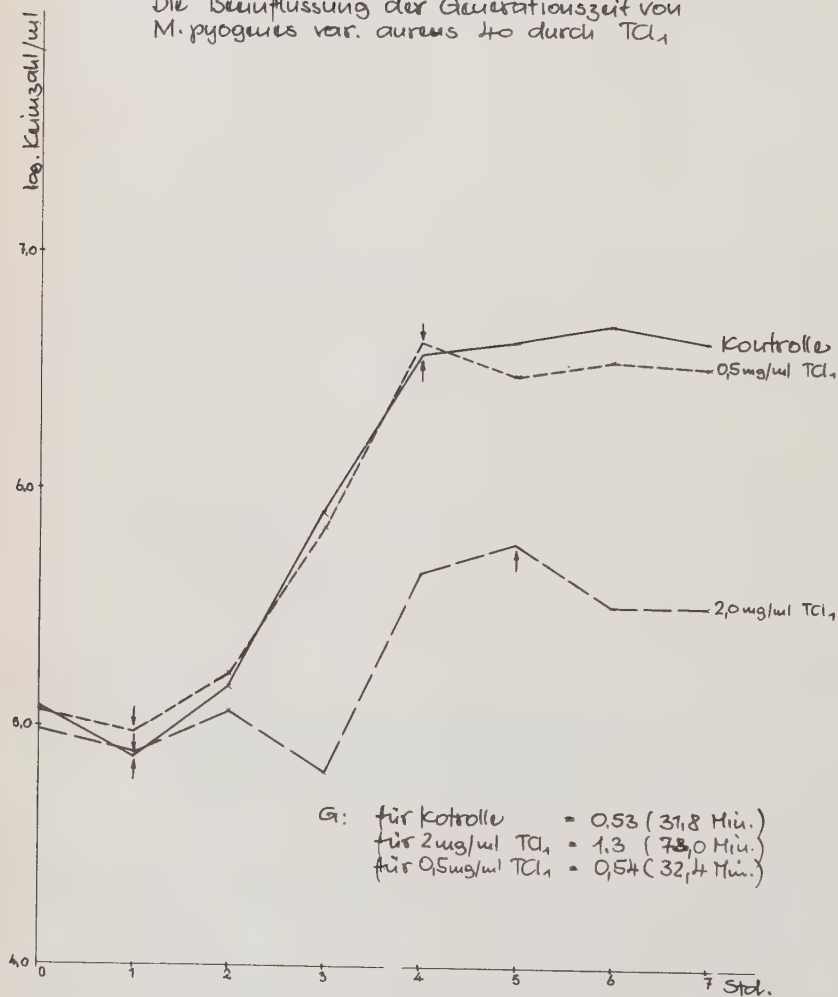


Abb. 21

Die Beeinflussung der Generationszeit von
M. pyogenes var. *aureus* 40 durch TCI_9 und TCI_{13}

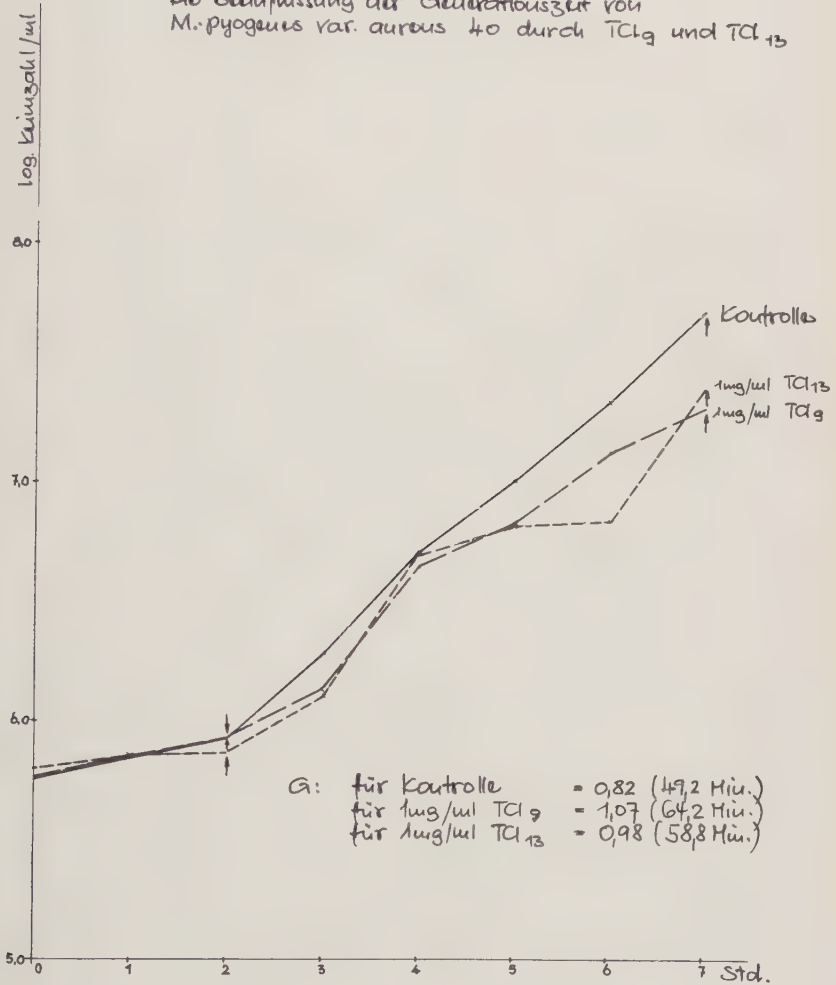


Abb. 22

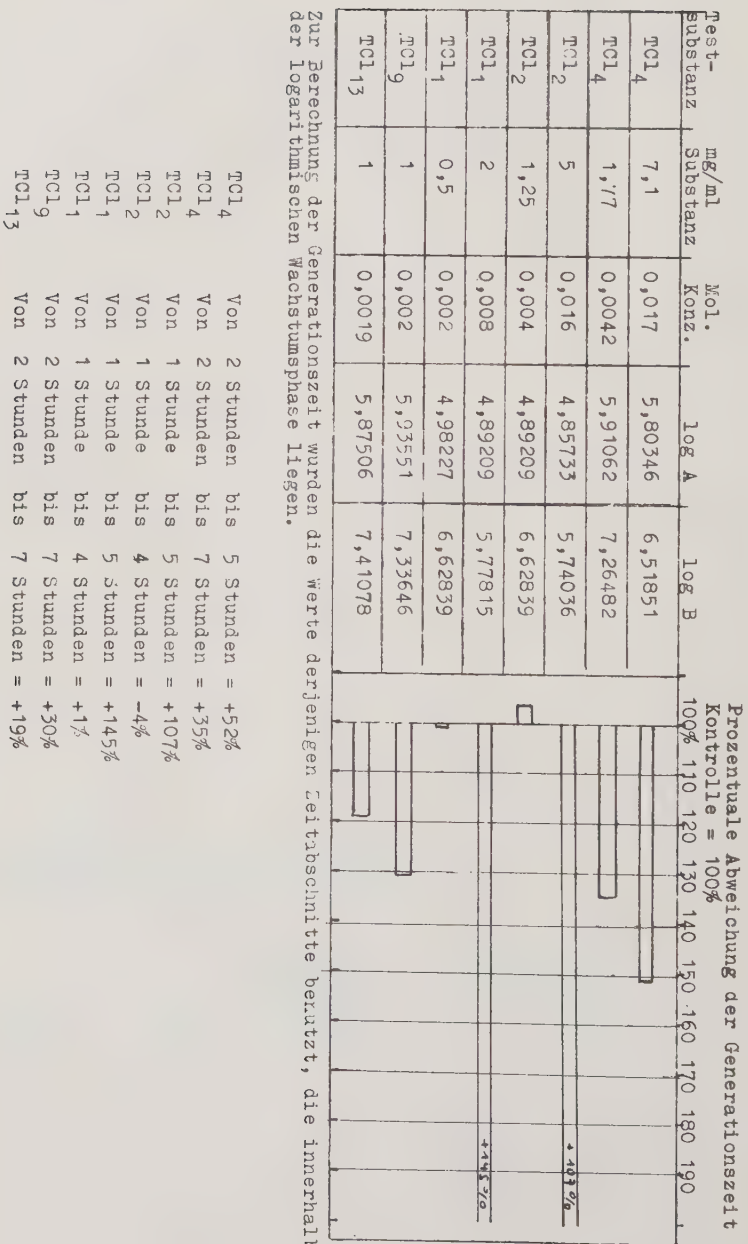


Abb. 23

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *E. coli* durch TCI_4

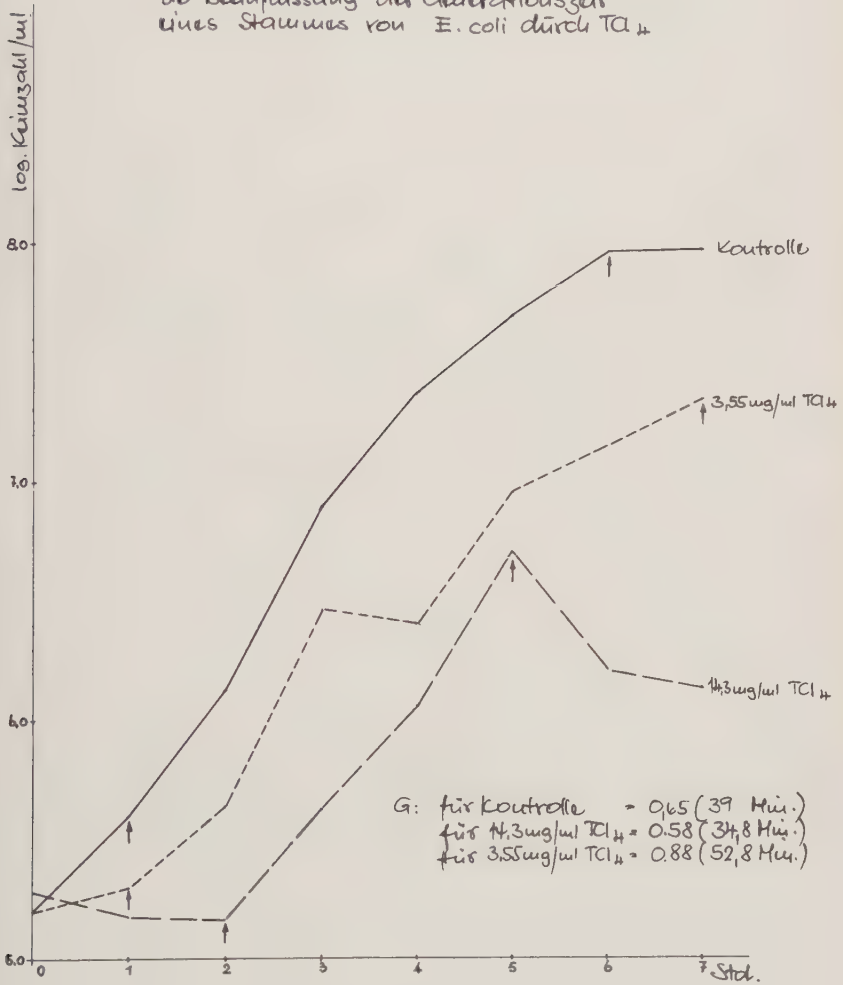


Abb. 24

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *E. coli* durch TCI_2

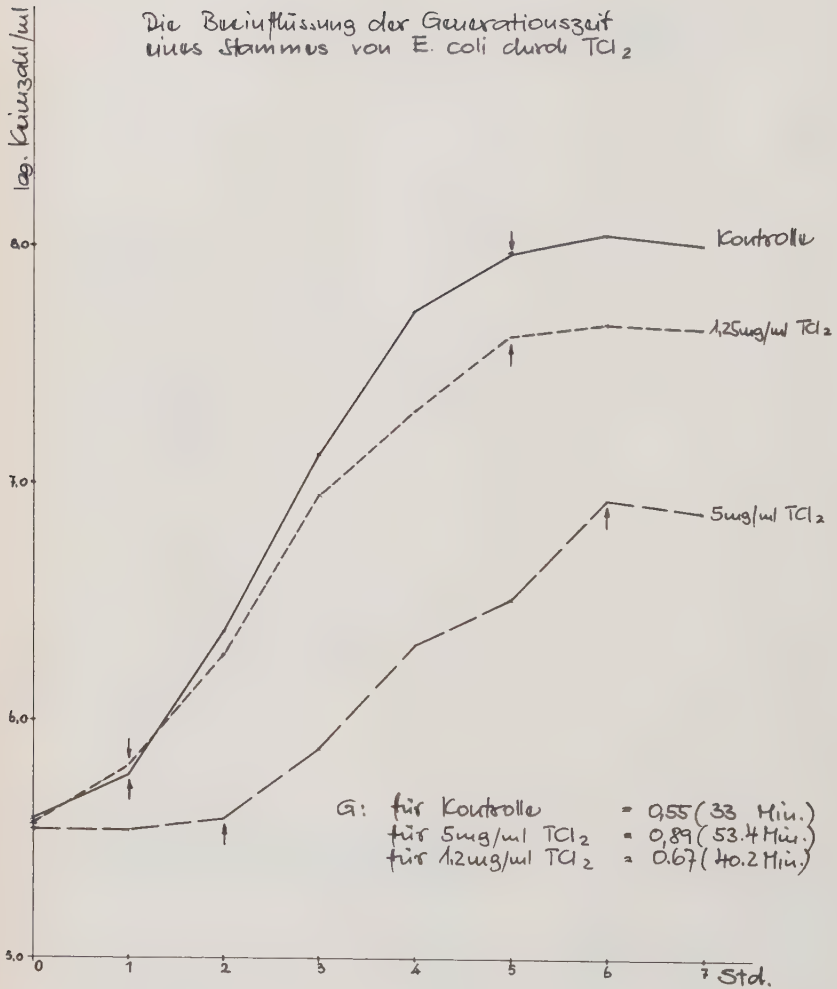


Abb. 25

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *E. coli* durch TCI_1

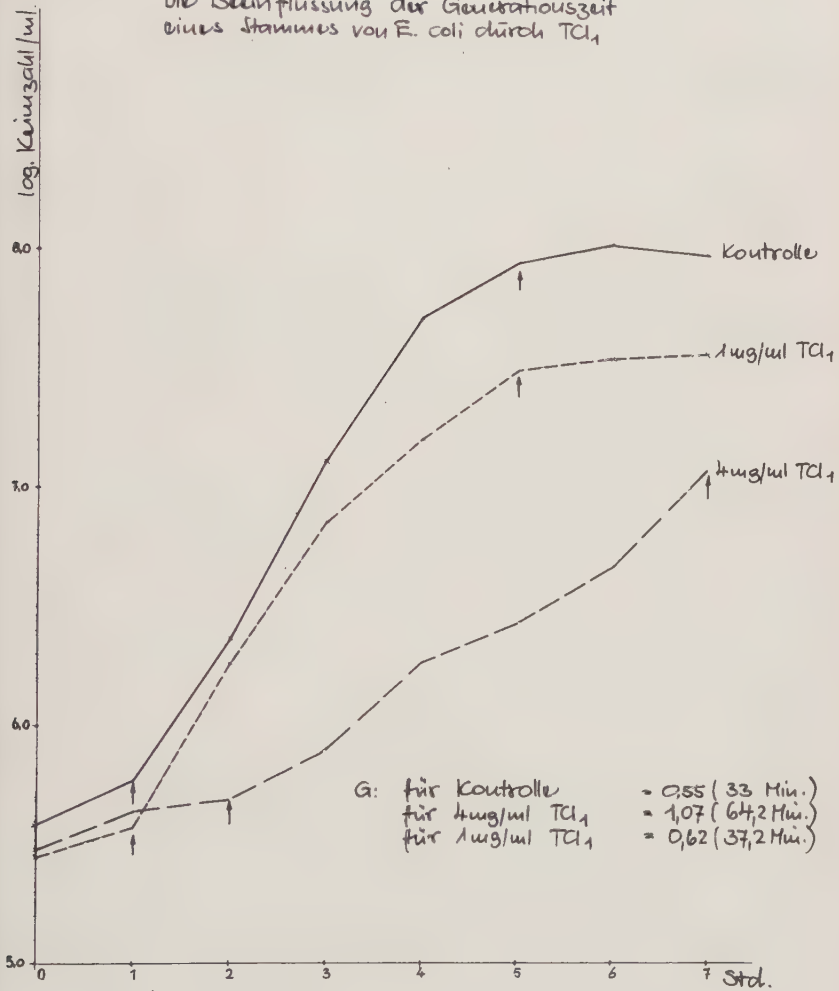
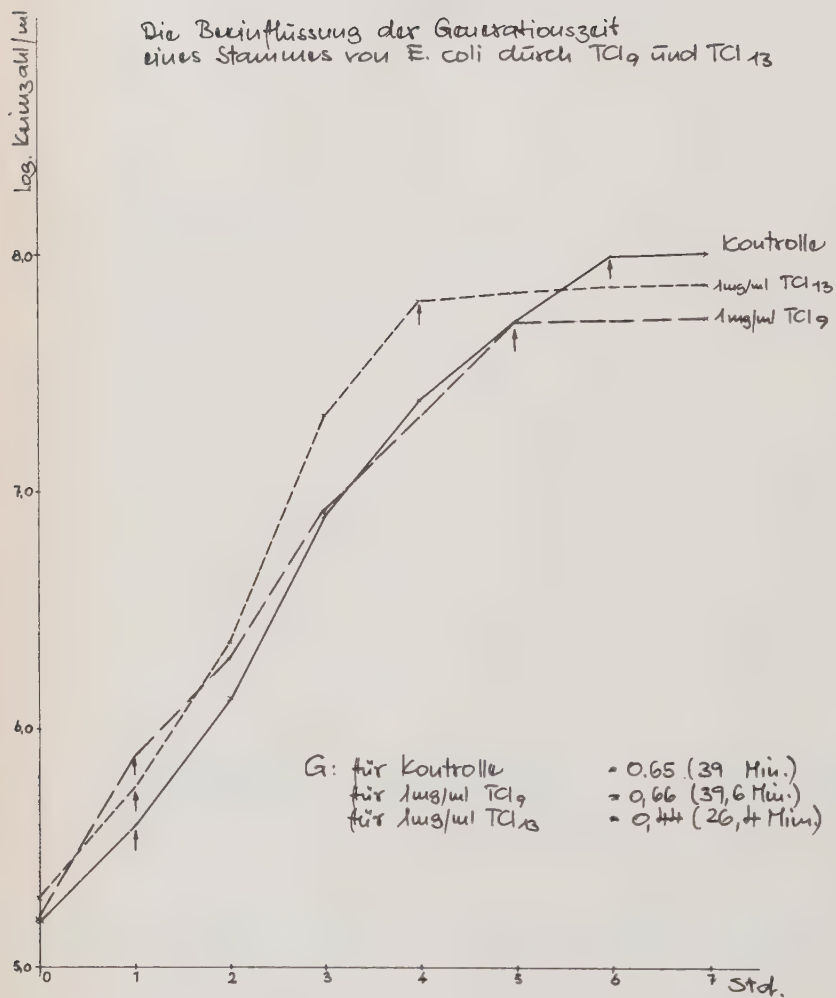


Abb. 26

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *E. coli* durch TCI_9 und TCI_{13}



Graphische Darstellung des TC1-Effekts auf die Generationszeit eines Stammes von E. coli

Abb. 27

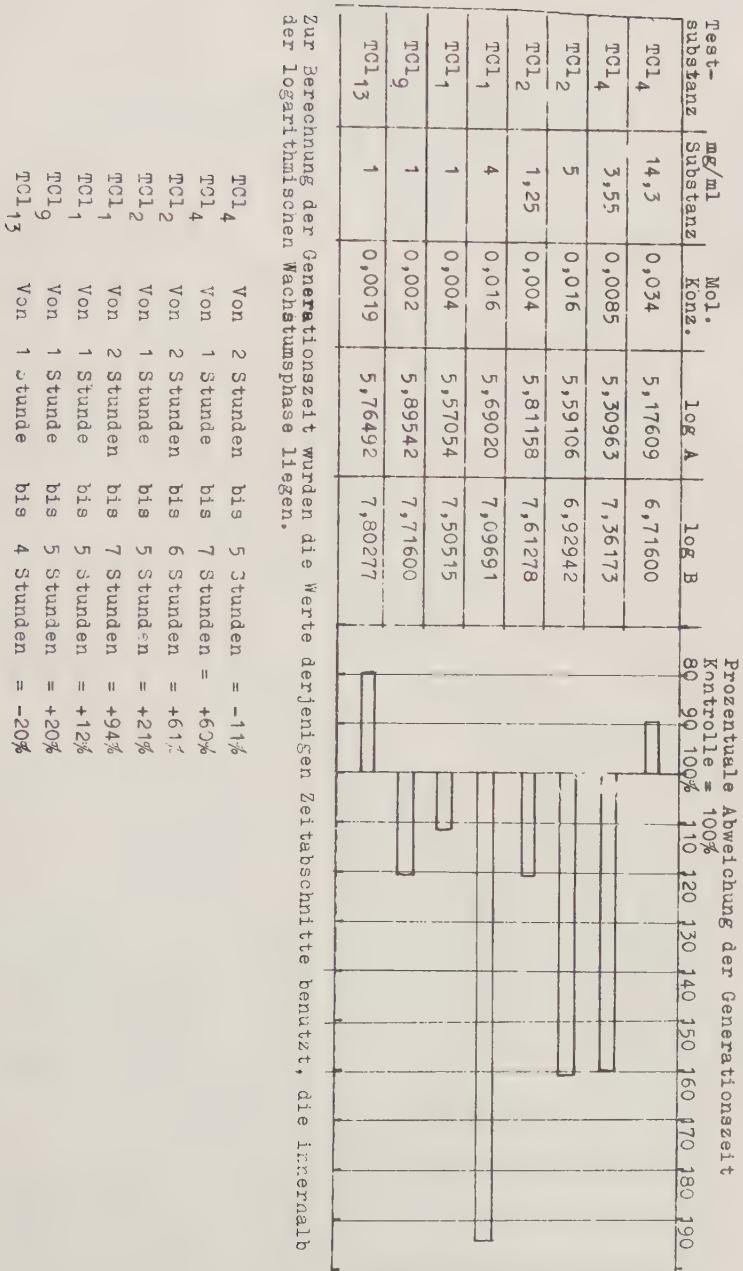


Abb. 28

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *S. typhi* durch TCI_H

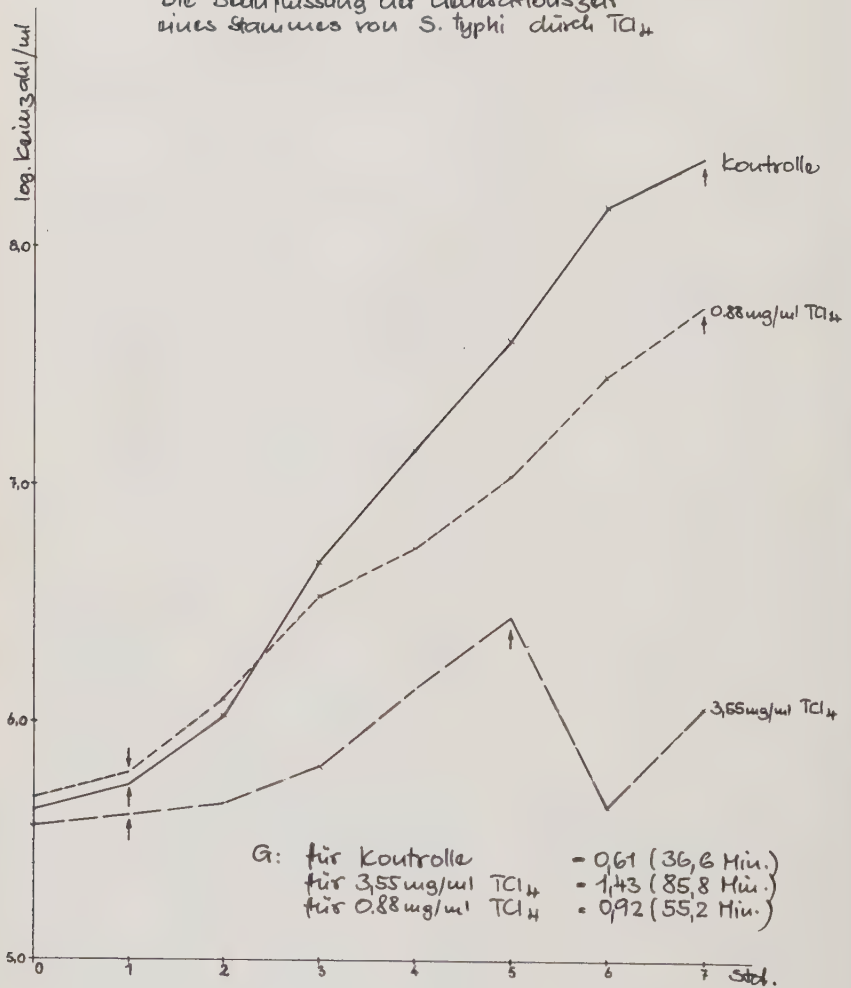


Abb. 29

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *S. typhi* durch TCI_2

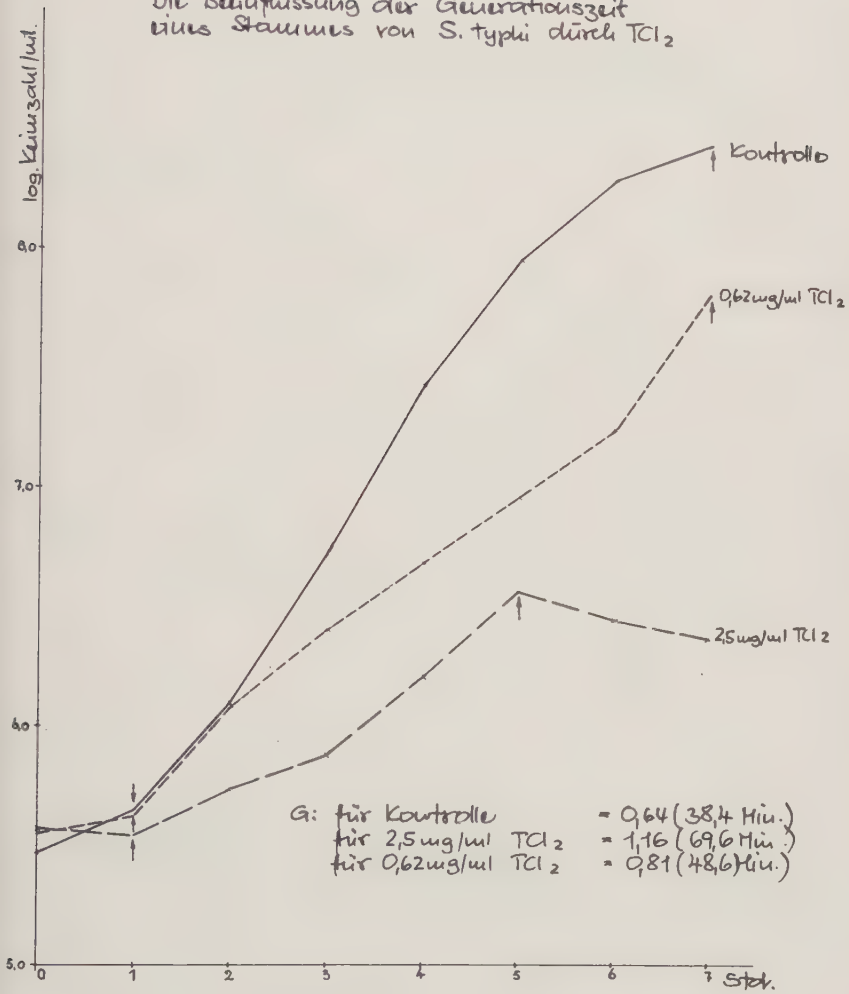


Abb. 30

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *S. typhi* durch TCI_1

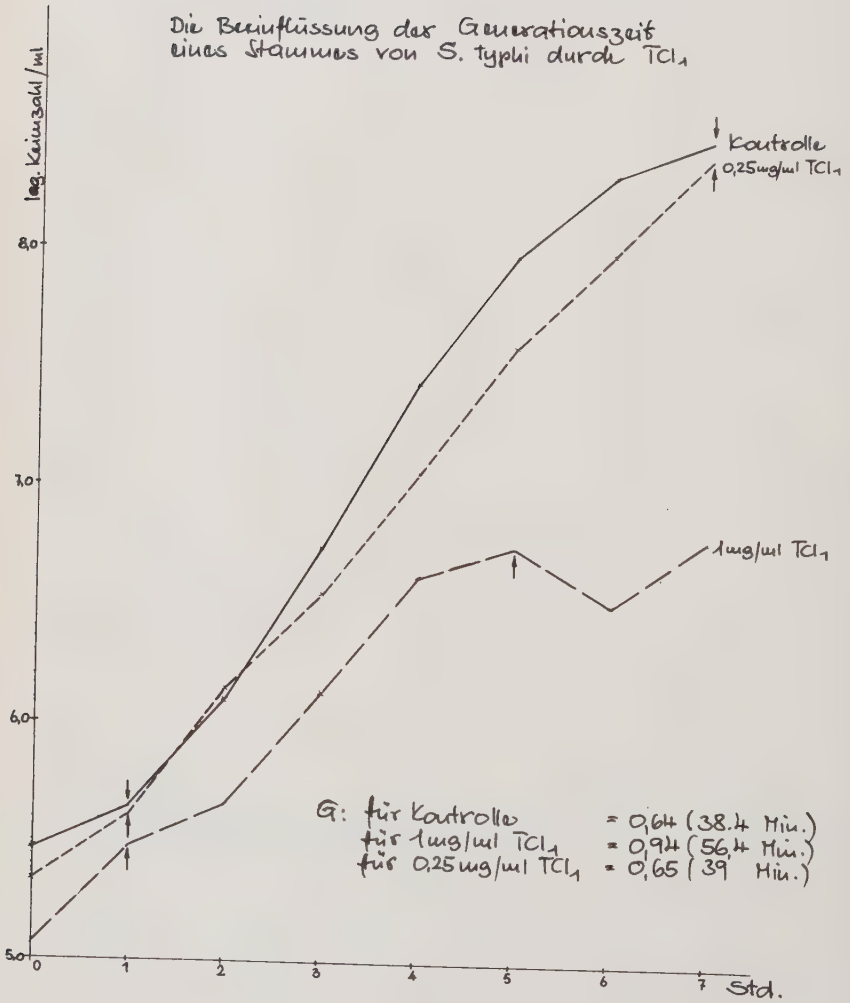
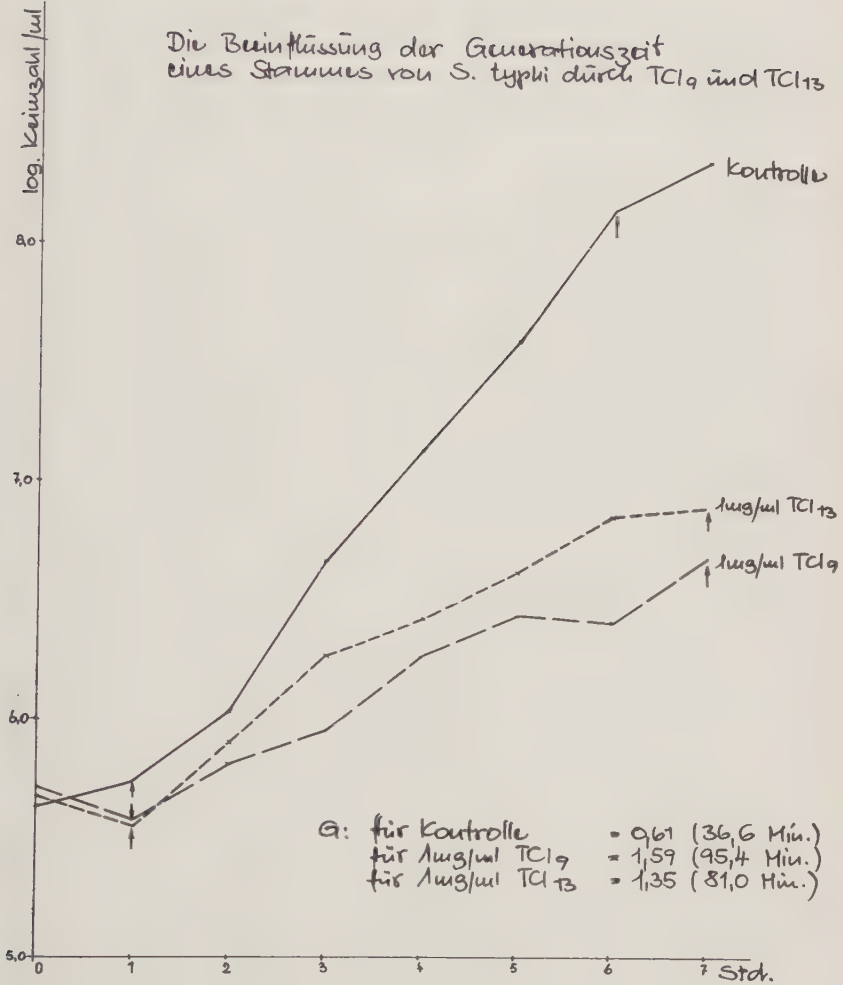


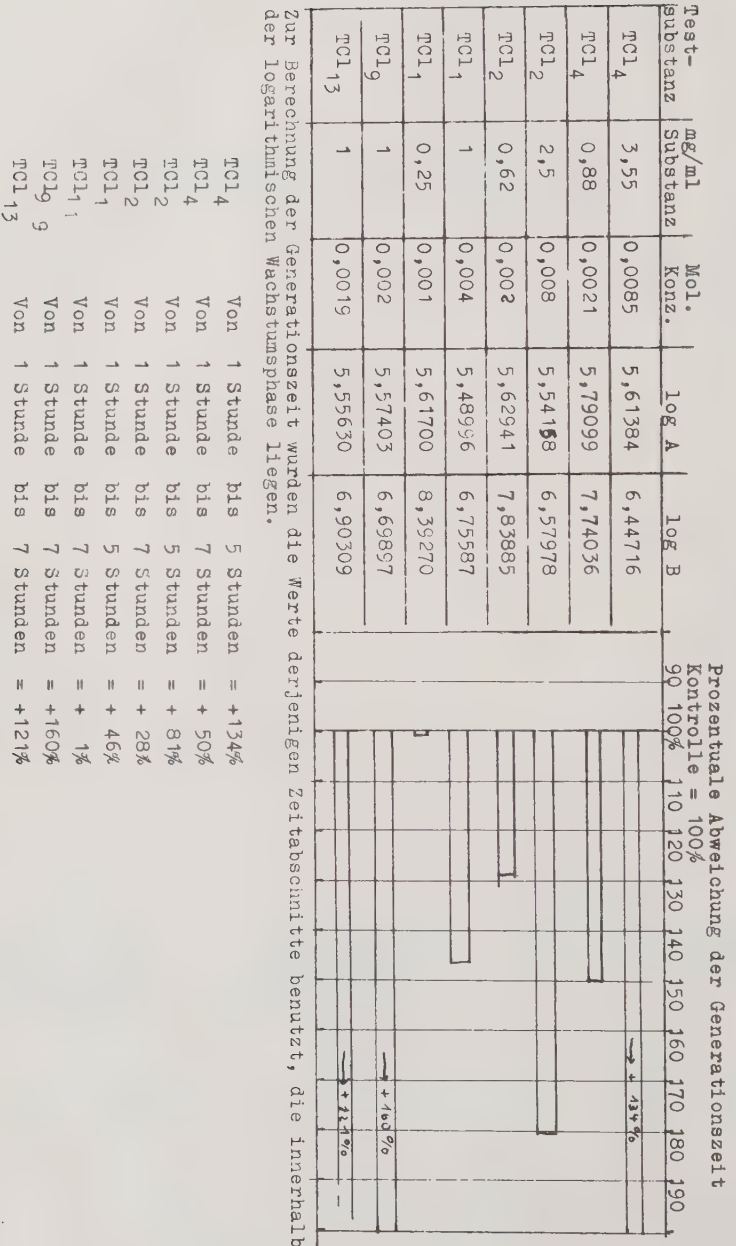
Abb. 31

Die Beeinflussung der Generationszeit
eines Stammes von *S. typhi* durch TCI_9 und TCI_{13}



Graphische Darstellung des Tc1-Effekts auf die Generationszeit eines Stammes von S. typhi

Abb. 32



LEBENS LAUF

Am 11. Mai 1934 wurde ich als Sohn des Redakteurs Erich Neubert und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Schoeps, in Magdeburg geboren.

Von 1940 bis 1944 besuchte ich die Volksschule, anschließend bis 1951 das Humanistische Domgymnasium in Magdeburg. Von der Schulbank weg wurde ich 1951 verhaftet und nach neunmonatiger Untersuchungshaft 1952 zu einem Jahr Gefängnis mit den üblichen Sühnemaßnahmen verurteilt, weil ich westdeutsche Zeitschriften mit in die Schule genommen hatte. Während der Haft zog ich mir eine doppelseitige Lungen-Tbc zu. Aus diesem Grunde wurde ich vorzeitig aus der Haft entlassen. In den Jahren 1952 bis 1956 mußte ich meine Krankheit zuerst in Magdeburg und später nach meiner Flucht in Westberlin, in einer Heilstätte im Schwarzwald und in der Schweiz auskurieren.

1956 bestand ich in Speyer am Humanistischen Gymnasium die Aufnahmeprüfung in die Oberprima. Im Frühjahr 1957 legte ich dort mein Abitur ab.

Im Sommersemester 1957 begann ich das Studium der Medizin in Freiburg, wo ich nach 5 Semestern im Sommer 1959 das Physikum machte. Seit dem 7. Semester studierte ich in Mainz und habe nach 11 Semestern mein Staatsexamen am 24. Januar 1963 bestanden.

1960 habe ich geheiratet und seit 1961 bin ich Vater eines Sohnes.

